

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

---

***Farfantepenaeus brasiliensis* (CRUSTACEA:  
PENAEOIDEA): MORFOLOGIA DO HEPATOPÂNCREAS  
E SUA RELAÇÃO COM OS METAIS PESADOS  
ENCONTRADOS NO LITORAL SUL DO ESPÍRITO SANTO**

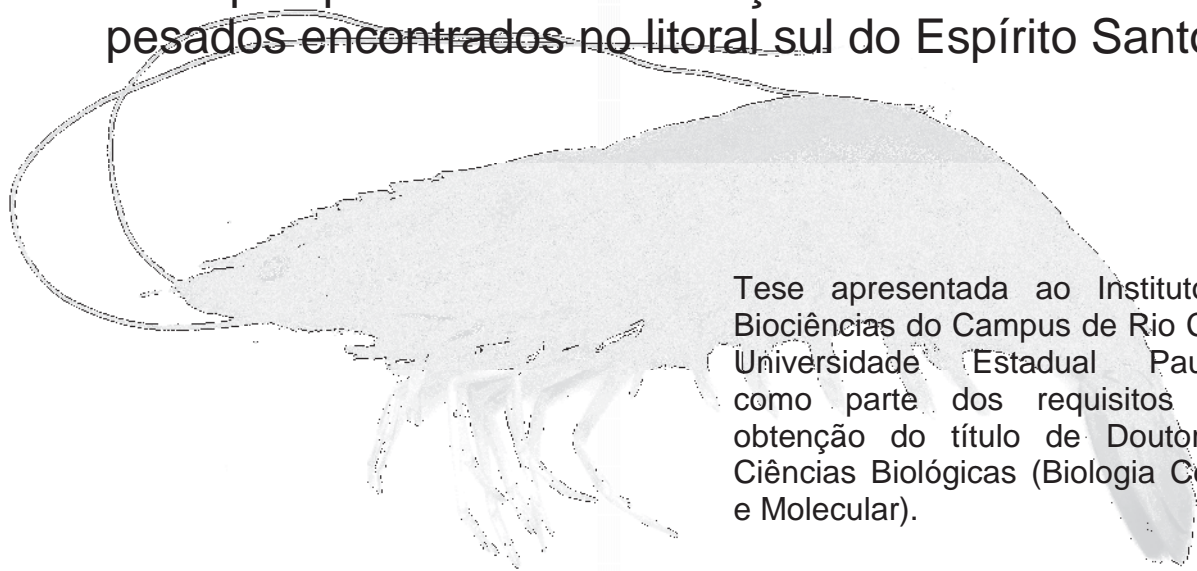
**ERIKA TAKAGI NUNES**

Tese apresentada ao Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas (Biologia Celular e Molecular).

Rio Claro  
Dezembro- 2011

**ERIKA TAKAGI NUNES**

*Farfantepenaeus brasiliensis*  
(Crustacea: Penaeoidea): morfologia do  
hepatopâncreas e sua relação com os metais  
pesados encontrados no litoral sul do Espírito Santo



Tese apresentada ao Instituto de  
Biotecnologia do Campus de Rio Claro,  
Universidade Estadual Paulista,  
como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Doutor em  
Ciências Biológicas (Biologia Celular  
e Molecular).

**Orientadora: Profa. Dra. Maria Izabel Souza Camargo**

**Co-orientadora: Profa. Dra. Adriane C. Araújo Braga**

Rio Claro  
Dezembro - 2011

595.3 Nunes, Erika Takagi  
N972f Farfantepenaeus brasiliensis (Crustacea: Penaeoidea):  
morfologia do hepatopâncreas e sua relação com os metais  
pesados encontrados no litoral sul do Espírito Santo / Erika  
Takagi Nunes. - Rio Claro : [s.n.], 2011  
185 f. : il., figs., gráfs., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista,  
Instituto de Biociências de Rio Claro

Orientador: Maria Izabel Souza Camargo

Co-Orientador: Adriane Cristina Araújo Braga

1. Crustáceo. 2. Camarão-rosa. 3. Glândula digestiva. 4.  
Histologia. 5. Bioindicador. 6. Poluição aquática. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI - Biblioteca da UNESP  
Campus de Rio Claro/SP

*Dedico esta tese...*

*A Deus, que por sua infinita bondade e amor, me permitiu mais esta conquista...*

*"Mas os que esperam no Senhor,  
renovarão as suas forças, subirão com  
asas como águias, correrão e não se  
cansarão, caminharão e não se  
fatigarão." (Isaías, 40:31)*

*... Àqueles quem amo incondicionalmente:*

*Meus pais, Carlos e Satiko,*

*Minhas maninhas Karina e Adriane (do coração)...*

*Marcelo Chagas, meu moreco...*

*Agradecimentos, de modo muito especial...*

*À Profa. Dra. Maria Izabel Souza Camargo, pela oportunidade de trabalharmos juntas, mais uma vez, e por ter colaborado, de maneira muito significativa, para minha formação acadêmica. “Bel”, muito, muito obrigada pelo incentivo, por sua amizade e pelo exemplo de garra! Você é merecedora de muito sucesso e reconhecimento!*

*À Profa. Dra. Adriane Braga, minha grande e fiel amiga “Dri”, pela orientação, doação e por ter dividido comigo todas as etapas de desenvolvimento do projeto. Sou grata por ter me feito entender um pouquinho deste mundo dos crustáceos e ter me mostrado que, além de gostosos, são muito interessantes! Obrigada, obrigada, muito obrigada por tudo, e principalmente, por fazer parte de minha vida e compartilhar mais este momento! Esta tese também é fruto de seus esforços!*

*"É impossível avaliar a força que possuímos sem medir o tamanho do obstáculo que podemos vencer, nem o valor de uma ação sem sabermos o sacrifício que ela comporta." (H. W. Beecher)*

## AGRADECIMENTOS

Agradecimento à Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e à Universidade Estadual Paulista (UNESP-Rio Claro), pela oportunidade para realização deste projeto de pesquisa.

Aos técnicos da UNESP-Rio Claro, a quem tenho grande carinho e gratidão: Gerson de Mello Souza, do laboratório de Histologia, e Mônica Iamonte e Antônio T. Yabuki da Microscopia Eletrônica, pela cooperação e suporte no processamento dos materiais para o estudo morfológico.

Ao Dr. Fernando Augusto Saraiva e à Lucia Helena do Centro de Pesquisas de Águas Subterrâneas (CEPAS) do Instituto de Geociências da USP pelo auxílio nas análises das águas, assim como à Robertinha (USP), pelo transporte.

Ao Prof. Dr. Diego Della Lucia (UFES-Alegre) e José Francisco Dias pela viabilização das análises espectrofotométricas dos camarões no Laboratório de Análise Mineralógica do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Aos pescadores do litoral sul do Espírito Santo: Davi e, de modo muito especial, ao Sr. Demeci e D. Lais, pelo auxílio nas coletas.

À Profa. Dra. Juliana Di Giorgio Giannotti da UFES pelo auxílio nas análises estatísticas. Aos demais amigos da UFES que sempre torceram e incentivaram a realização deste doutorado: Andréia Barcelos, Tais Soares, Marli Oliveira, José Augusto David, Luceli de Souza, Elisabete Fantuzzi e ao estimado Isaías. Sem contar, o apoio dos demais professores do DMVET pela liberação e pela torcida de nosso secretário, “o grande Arildisson”!

Aos docentes do Departamento de Biologia da UNESP de Rio Claro, em especial, aos professores: Carmem Silvia F. Christofolletti, Sanae Kasahara, Flavio Henrique Caetano, Maria Ap. Marim-Morales e José Chaud Netto, pelo apoio e carinho. E ao amigo Silvio Nihei do IB-USP, exemplo de cientista, quem muito estimo.

Aos amigos Sandra, Pablito, Deby, Alex, Luis, Gis e Gaby pelas ajudas, pelos momentos compartilhados de descontração, papo furado, desabafo e algumas discussões científicas. À Andrea pelo auxílio artístico, Iza pelo técnico e André pelos “quebra-galhos”.

Aos amigos unespianos Gra, Gleí, Sil “Baiana”, Gui Gomes, Ursula e Fabio, Sunao, Sandra Cabrita (denovo) pela amizade e pelas hospedagens. E aqueles que, agora são também, meus amigos Alegrensenses: Giu, Alberto, Zé e Tati. Adoro vocês, obrigada pela força!

Ao Christiano Pinheiro, José Luiz Passamai Jr., Marcos Tadeu Orlando D’Azeredo da UFES e Carlos Perez do LNLS- Unicamp, pelas portas que abriram para complementarmos este projeto com o mapeamento por meio de micro-XRF.

Aos alunos da UFES- Mariela e Daniel - que de alguma maneira colaboraram para o desenvolvimento deste projeto, em especial, à Gaby Tonini pelas discussões.

Aos meus familiares que sempre me apoiaram e ficam na torcida por meu sucesso: Sergio, Katia, Tia Sandra, D. Sonia e Sr. Josias, Vagner, Ana, Ju. E àqueles amigos que também são como da família: Vivi e Magu, Glauce e Silvério, Milena e Lee, Tios Luiz e Lourdes, Dri Feu e Maria Vitória.

Agradeço a todas as pessoas que possa ter me esquecido de mencionar, mas que auxiliaram, de forma direta ou indireta, para a realização deste trabalho.

*Há pessoas que nos falam e nem as escutamos, há pessoas que nos ferem e nem cicatrizes deixam, mas há pessoas que simplesmente aparecem em nossas vidas e nos marcam para sempre”.*

*(Cecília Meireles)*



*“Contei meus anos e descobri que terei menos tempo para viver daqui para frente do que já vivi até agora. Sinto-me como aquele menino que ganhou uma bacia de jabuticabas. As primeiras, ele chupou displicente, mas percebendo que faltam poucas, rói o caroço.*

*Já não tenho tempo para lidar com mediocridades. Não quero estar em reuniões onde desfilam egos inflados. Não tolero gabolices. Inquieto-me com invejosos tentando destruir quem eles admiram, cobiçando seus lugares, talentos e sorte.*

*Já não tenho tempo para projetos megalomaniacos. Não participei de conferências que estabelecem prazos fixos para reverter a miséria do mundo. Não vou mais a workshops onde se ensina como converter milhões usando uma fórmula de poucos pontos. Não quero que me convidem para eventos de um fim-de-semana com a proposta de abalar o milênio.*

*Já não tenho tempo para reuniões intermináveis para discutir estatutos, normas, procedimentos parlamentares e regimentos internos. Não gosto de assembleias ordinárias em que as organizações procuram se proteger e perpetuar através de infundáveis detalhes organizacionais.*

*Já não tenho tempo para administrar melindres de pessoas, que apesar da idade cronológica, são imaturos. Não quero ver os ponteiros do relógio avançando em reuniões de “confrontação”, onde “tiramos fatos a limpo”. Detesto fazer acareação de desafetos que brigaram pelo majestoso cargo de secretário do coral.*

*Já não tenho tempo para debater vírgulas, detalhes gramaticais sutis, ou sobre as diferentes traduções da Bíblia. Não quero ficar explicando porque gosto da Nova Versão Internacional das Escrituras, só porque há um grupo que a considera herética. Minha resposta será curta e delicada: - Gosto, e ponto final! Lembrei-me agora de Mário de Andrade que afirmou: “As pessoas não debatem conteúdos, apenas os rótulos”. Meu tempo tornou-se escasso para debater rótulos.*

*Já não tenho tempo para ficar dando explicação aos medianos se estou ou não perdendo a fé, porque admiro a poesia do Chico Buarque e do Vinicius de Moraes; a voz da Maria Bethânia; os livros de Machado de Assis, Thomas Mann, Ernest Hemingway e José Lins do Rego.*

*Sem muitas jabuticabas na bacia, quero viver ao lado de gente humana, muito humana; que sabe rir de seus tropeços, não se encanta com triunfos, não se considera eleita para a “última hora”; não foge de sua mortalidade, defende a dignidade dos marginalizados, e deseja andar humildemente com Deus.*

*Caminhar perto dessas pessoas nunca será perda de tempo.”*

## SUMÁRIO

RESUMO E ABSTRACT .....	1
I. INTRODUÇÃO .....	4
II. OBJETIVOS .....	16
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	18
III.1. Coleta, identificação, mensuração e sexagem dos camarões .....	19
III.2. Análise microscópica .....	22
III.2.1. Microscopia de luz.....	22
III.2.1.1. Análise histológica .....	22
III.2.1.2. Análise histoquímica .....	23
III.2.1.2.1. Azul de bromofenol para detecção de proteínas .....	23
III.2.1.2.2. Técnica de Baker para detecção de lipídios .....	23
III.2.1.2.3. PAS/Azul de Alcian para detecção de polissacarídeos .....	23
III.2.1.2.4. Von Kossa para detecção de cálcio .....	24
III.2.2. Microscopia eletrônica.....	24
III.2.1.1. Microscopia eletrônica de transmissão.....	24
III.2.1.2. Microscopia eletrônica de varredura .....	25
III.3. Avaliação da Contaminação Química da Água por Metais Pesados .....	25
III.4. Avaliação da Concentração Biológica de Metais Pesados.....	26
IV. RESULTADOS .....	27
<b>Capítulo 1</b> .....	30
Comparação morfo-funcional do hepatopâncreas de fêmeas do camarão-rosa <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) em dois estágios de desenvolvimento gonadal	
<b>Capítulo 2</b> .....	56
Caracterização histoquímica do hepatopâncreas de fêmeas adultas do camarão-rosa <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) coletadas no litoral sul do Espírito Santo.	
<b>Capítulo 3</b> .....	80
Ultraestrutura das células R, F e B do epitélio hepatopancreático de camarões-rosa <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (Crustacea; Decapoda; Penaeoidea) coletados no litoral sul do Espírito Santo, Brasil.	
<b>Capítulo 4</b> .....	102
Níveis de metais pesados nas águas e em camarões <i>Xiphopenaeus kroyeri</i> e <i>Farfantepenaeus brasiliensis</i> (Crustacea, Decapoda) do litoral sul do Espírito Santo, Brasil.	

V. DISCUSSÃO GERAL.....	123
VI. CONCLUSÕES.....	134
VII. REFERÊNCIAS.....	137
VIII. APÊNDICES .....	156
IX. ANEXOS.....	159

*Resumo e Abstract*

---

## RESUMO

NUNES, Erika Takagi. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea: Penaeoidea): morfologia do hepatopâncreas e sua relação com os metais pesados encontrados no litoral sul do Espírito Santo. 2011. 185f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas - Biologia Celular e Molecular). Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Rio Claro, SP, 2011.

O hepatopâncreas dos crustáceos, também conhecido como glândula digestiva, passa por modificações morfo-funcionais em resposta a fatores como dieta, variações de temperatura, ciclo de muda, estágio reprodutivo e contaminação. Este trabalho objetivou analisar, morfologicamente, através de técnicas de microscopia eletrônica e de luz, o hepatopâncreas de fêmeas adultas do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*, em dois diferentes estágios de desenvolvimento gonadal, coletadas em Guarapari, Espírito Santo, Brasil, bem como relacionar esta espécie às condições ambientais, comparativamente ao camarão *Xiphopenaeus kroyeri*. A microscopia eletrônica de varredura evidenciou hepatopâncreas de tamanhos semelhantes nas fêmeas com gônadas desenvolvidas (DE) e naquelas esgotadas (ES), apresentando-se como um órgão não-lobado e recoberto por tecido conjuntivo com poros. Histologicamente, foram identificados cinco tipos celulares nos túbulos: células E (embrionárias), R (reabsortivas), F (fibrilares), B (vesiculares) e M (basais). Comparado às DE, o epitélio hepatopancreático das fêmeas ES mostrou-se mais escamoso, acidófilo, delimitando um amplo lúmen que contem partes das células B e R; nestas, ainda, as células M estiveram mais evidentes. As células R mostraram escassez em organelas, mitocôndrias apicais, vacúolos marcados para polissacarídeos ácidos, além de gotas lipídicas vistas principalmente nas fêmeas ES. As células F, fortemente marcadas pelo azul de bromofenol, apresentaram vesículas de secreção próximas às microvilosidades, retículo endoplasmático rugoso bem desenvolvido, em arranjo circular ou com cisternas dilatadas. As células B foram marcadas pela presença de grandes corpos digestivos com conteúdo polissacarídico neutro, sendo eliminado, posteriormente, no lúmen tubular. As características observadas permitiu-nos, também, inferir os possíveis estágios de muda nos quais os camarões se encontravam. Ainda que alguns metais pesados estivessem em níveis elevados nas amostras de água, tanto em *F. brasiliensis* como nos indivíduos de *Xiphopenaeus kroyeri* analisados, foram acumulados dentro dos valores permitidos pela legislação, indicando-os apropriados para o consumo humano, devido à participação do hepatopâncreas nos processos de detoxificação.

**Palavras-chave:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, hepatopâncreas, histologia, histoquímica, ultraestrutura, metais pesados.

## ABSTRACT

NUNES, Erika Takagi. *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea: Penaeoidea): morphology of the hepatopancreas and its relation to the heavy metals found in the southern coast of the Espírito Santo. 2011. 185f. Thesis (Ph.D. in Biological Sciences - Cellular and Molecular Biology). Biosciences Institute, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Rio Claro, SP, 2011.

The hepatopancreas of crustaceans, also known as the digestive gland, undergoes morphological and functional changes in response to factors such as diet, temperature variations, moult cycle, reproductive stage and contamination. This study aimed to analyze, morphologically, by means of electron and light microscopies, the hepatopancreas of adult females of the pink shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* at two different stages of gonadal development, collected in the southern coast of Espírito Santo, Brazil, as well as to relate this species to the environmental conditions, compared to *Xiphopenaeus kroyeri* shrimp. The scanning electron microscopy revealed similar size in the hepatopancreas of females with developed gonads (DE) and those with exhausted gonads (ES). It presents as a non-lobed organ covered by connective tissue with pores. Histologically, five cell types were identified in tubules: E (embryonic), R (reabsorptive), F (fibrillar), B (vesicular) and M (basal). Compared to those DE females, the hepatopancreas from ES females showed a more flattened epithelium, acidophilus and delimiting a large lumen which contains parts of R and B cells; in these, also, the M cells were more evident. R cells showed shortage in organelles, apical mitochondria, vacuoles marked for acid polysaccharides, and lipid droplets seen mainly in female ES. F cells were strongly marked by bromophenol blue and presented secretory vesicles near the microvilli, well-developed rough endoplasmic reticulum in circular arrangement, or even with dilated cistern. B cells were marked by the presence of large digestive bodies with neutral polysaccharide content, being later eliminated inside the tubular lumen. The observed features also allowed us to infer the possible stages of moult in which the shrimps were. Although some heavy metals were at high levels in the water samples, they were accumulated in *F. brasiliensis* and in *Xiphopenaeus kroyeri* individuals analyzed within the range allowed by the legislation, thus indicating them suitable for human consumption due to the participation of the hepatopancreas in detoxification process.

**Keywords:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, hepatopancreas, histology, histochemistry, ultrastructure, heavy metals.

# *Introdução*

---

## I. INTRODUÇÃO

### CARACTERIZAÇÃO REGIONAL E DOS CRUSTÁCEOS

O litoral sudeste do Brasil (região limítrofe entre Rio de Janeiro e Espírito Santo) até a extremidade sul do Rio Grande do Sul é considerado área de transição hidrológica e faunística. A condição hidrológica é influenciada, principalmente, pela ação das águas quentes da Corrente do Brasil, das águas frias da Corrente das Malvinas, além de outros tipos de águas, o que traz como consequência a presença de espécies de várias origens, além das endêmicas (MELO, 1990). Desta forma, esta área é composta por uma mistura de faunas oriundas das regiões tropicais, subtropicais e subantárticas (SUMIDA; PIRES-VANIN, 1997).

O trecho sul da costa do Estado do Espírito Santo, Brasil, compreende uma área de 2.346 Km<sup>2</sup>, com litoral de 156 Km de extensão, correspondendo 38,04% da costa capixaba (410 Km). A faixa litorânea estende-se desde o canal da Praia da Fruta, divisa dos municípios de Vila Velha e Guarapari, até o Rio Itabapoama, divisa dos Estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro (IDES, 1999). A região é dividida político-administrativamente em seis municípios: Guarapari, Anchieta, Piúma, Itapemirim, Marataízes e Presidente Kennedy (IDES, 1999), possuindo como principal atrativo a exuberante costa litorânea englobando 98 praias e 9 pequenas ilhas.



O táxon Crustacea conta com aproximadamente 67.000 espécies e apresenta a grande diversidade de organismos entre os Arthropoda (BRUSCA; BRUSCA, 2007) representado pelos mais populares invertebrados bentônicos, como os camarões, as lagostas, os siris e os caranguejos, sendo estes subdivididos em seis classes, 13 subclasses e 47 ordens (MARTIN; DAVIS, 2001). Segundo De Grave et al. (2009), a ordem Decapoda representa uma das com maior sucesso adaptativo dentre os crustáceos, com mais de 14.700 espécies viventes, distribuídas em mais de 2.700 gêneros e com ampla distribuição mundial.

Os camarões são invertebrados muito comuns no ambiente marinho, com espécies ocorrendo nas regiões tropicais e subtropicais e com significativa diminuição em direção às regiões temperadas e frias (BOSCHI, 2000). Entretanto, segundo Boschi (1963), a distribuição espacial e temporal dos camarões depende de vários fatores ambientais como disponibilidade de alimento, tipo de sedimento, salinidade, profundidade e temperatura. Além disto, os comportamentos migratórios dentro do ciclo biológico da espécie podem influenciar nesta distribuição (DALL et al., 1990).

De acordo com Fiedler (2000), existem três grupos de decápodos conhecidos como camarão: os Penaeidea (Subordem Dendrobranchiata), os Stenopodidea e os Caridea (Subordem Pleocyemata). Os Penaeidea possuem brânquias dendrobranquiadas e os três primeiros pereiópodos quelados. As fêmeas não carregam ovos e as larvas eclodem como nauplius. Os camarões Stenopodidea também apresentam os três primeiros pereiópodos quelados, porém suas brânquias são tricobranquiadas. Nos camarões Caridea, somente os dois primeiros pereiópodos são quelados e as brânquias são filobranquiadas. Na época da reprodução ambos os grupos Stenopodidea e Caridea, possuem fêmeas adultas com ovos aderidos aos seus pleópodos e as larvas eclodem como zoea (PINHEIRO; HEBLING, 1998).

Os Dendrobranchiata são camarões de pequeno a grande porte, apresentando importantes componentes dos ecossistemas estuarinos e marinhos, podendo ser encontrados em águas muito rasas dos estuários tropicais até mais de 1000 m de profundidade na região do talude continental (FAO, 2006). Burkenroad (1963, 1981, 1983) e Glaessner (1969) definem Dendrobranchiata com base nos seguintes caracteres: 1) durante o desenvolvimento do indivíduo, as pleurobrânquias aparecem depois das artrobrânquias e das podobrânquias; 2) a pleura do primeiro pereonito é expandida e cobre a segunda pleura; 3) o apêndice interno é ausente, exceto por vestígios ocasionalmente encontrados no 1º e 2º pleópodos dos machos; 4) brânquias do tipo dendrobrânquia; e 5) os três primeiros pares de pereiópodos são quelados.

Felgenhauer e Abele (1983) incluem ainda outras características, tais como: terceiro maxilípede com sete segmentos, machos com petasma e as fêmeas não carregam ovos.

Atualmente, a subordem Dendrobranchiata é composta por duas superfamílias, sendo a Penaeoidea a mais representativa. Estes compreendem cinco famílias: Aristeidae, Benthescymidae e Solenoceridae, que predominam em águas profundas, e Penaeidae e Sicyoniidae, que habitam preferencialmente a plataforma continental (PÉREZ-FARFANTE; KENSLEY, 1997).

A subordem Dendrobranchiata é conhecida por apresentar várias espécies de camarões que constituem recursos pesqueiros mais frequentes e explorados na costa brasileira (D'INCAO, 1991). Nas regiões Sudeste e Sul do Brasil existem seis espécies de Penaeidae com elevado valor econômico: o camarão-rosa (*Farfantepenaeus paulensis* e *F. brasiliensis*), o branco (*Litopenaeus schmitii*), o sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), o camarão-santana ou vermelho (*Pleoticus muelleri*) e o barba-ruça ou ferrinho (*Artemesia longinaris*) (D'INCAO et al., 2002).

Esses camarões são considerados como valiosos recursos para pesca e para a aquicultura nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Pelo seu acentuado valor nutritivo e gastronômico, os camarões constituem fonte de emprego e renda para milhares de pessoas, sendo que a pesca apresenta significativa importância econômica, social e cultural (BRANCO, 2005).

A pesca dos camarões nas regiões sudeste e sul do Brasil é desenvolvida, principalmente sobre os estoques de camarão-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*) e de camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*). A distribuição geográfica desses recursos pesqueiros é bastante ampla e foi estudada por D'Incao (1995). *Farfantepenaeus brasiliensis* é encontrado desde o Atlântico Ocidental-EUA até o Brasil (Amapá até o Rio Grande do Sul) (COSTA et al., 2003), enquanto *F. paulensis* distribui-se ao longo da plataforma continental brasileira a partir de Ilhéus (BA) estendendo-se pela plataforma do Uruguai até o litoral nordeste da Argentina (D' INCAO, 1991).

De acordo com Iwai (1978), os camarões-rosa apresentam uma fase marinha e outra estuarina durante seu ciclo de vida. Na primeira, ocorre a reprodução e o desenvolvimento larval, enquanto na outra, há rápido crescimento dos juvenis que, posteriormente, migrarão para o oceano a fim de completar o ciclo de vida no mar aberto.

A pesca do camarão-rosa é efetuada sobre esses dois estratos populacionais, com a captura de juvenis e pré-adultos em áreas estuarinas e lagunares (pesca artesanal) e a de adultos em águas oceânicas (pesca industrial). O início da pesca artesanal na região é indefinido, mas os primeiros dados disponíveis sobre a produção em criadouros datam de 1945, no Rio Grande do Sul. A pesca industrial foi iniciada após a II Grande Guerra, na década de 40 (VALENTINI et al., 1991a).

O camarão sete-barbas, *X. kroyeri*, apresenta ampla distribuição geográfica no Atlântico Ocidental, ocorrendo desde a Virgínia, USA até o Rio Grande do Sul, Brasil; no Atlântico Ocidental só ocorre esta espécie do gênero *Xiphopenaeus*. O camarão sete-barbas pode ser capturado em salinidades que variam entre 9 e 36,5 e em profundidades de até 118 metros, mas a espécie é mais abundante entre 5 m e 27 m (HOLTHUIS, 1980; PÉREZ-FARFANTE, 1988; DALL et al., 1990; D'INCAO, 1995). Segundo Oliveira (2005), esta espécie é o crustáceo de maior importância comercial da megafauna do norte da costa do Estado de São Paulo, Brasil, sendo destinado ao consumo humano.

A pesca do camarão sete-barbas ocorre no litoral dos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Os primeiros dados de desembarque disponíveis provêm de São Paulo e referem-se ao ano de 1959 (VALENTINI et al., 1991b).

Apesar de seu grande valor econômico, são escassas as publicações sobre a morfologia, fisiologia e bioquímica de *X. kroyeri* (OLIVEIRA, 2005; FRANSOZO, 2008), sendo, no Brasil, extensivamente estudadas a sua biologia, dinâmica populacional, distribuição geográfica e ecologia (CORTÉS; CRIALES, 1990; NAKAGAKI; NEGREIROS-FRANZOZO, 1998; FRANZOZO et al., 2002).

A maioria das informações disponíveis acerca dos camarões marinhos que ocorrem no Brasil consiste em dados sobre a biologia e ecologia dos peneídeos no litoral do estado de São Paulo (NAKAGAKI; NEGREIROS-FRANZOZO, 1998; MANTELATTO; FRANZOZO, 1999; FRANZOZO et al., 2000; COSTA et al., 2003; COSTA; FRANZOZO, 2004; CASTRO et al., 2005; CASTILHO et al., 2007; entre outros) e na região sul do Brasil (FONTOURA; BUCKUP, 1989; D' INCAO, 1991; D' INCAO et al., 1998; GONÇALVES; FONTOURA, 1999; PEIXOTO et al., 2002; SOARES et al., 2004; SOARES et al., 2005; DUMONT et al., 2007, entre outros), sendo praticamente inexistente na literatura trabalhos sobre esses organismos no litoral sul capixaba.

## O SISTEMA DIGESTÓRIO – HEPATOPÂNCREAS

O sistema digestório, responsável por promover a digestão do alimento ingerido, consiste basicamente em uma estrutura tubular, o tubo digestório, que, em Decapoda, apresenta duas aberturas (boca e ânus) e é dividido em três partes principais: intestino anterior, intestino médio e intestino posterior. De maneira geral, o intestino anterior é composto pelo esôfago e uma grande parte do estômago, onde estão presentes as partes responsáveis pela mastigação e filtração (CECCALDI, 1989). O intestino médio, região sem revestimento de quitina, desempenha função nas últimas fases do ciclo digestivo: completa a quebra do alimento através de enzimas digestivas; absorve, transporta para o sangue e armazena os produtos da digestão; remove material residual na forma de fezes; mantém o balanço hídrico e salino; detoxifica metais e substâncias orgânicas estranhas, etc (ICELY; NOTT, 1992). Já o intestino posterior, assim como o anterior, é um tubo quitinoso praticamente reto que recebe as partículas não aproveitadas e se dilata posteriormente no reto, terminando no ânus (CECCALDI, 1989).

O hepatopâncreas domina o intestino médio tanto em volume como em complexidade (ICELY; NOTT, 1992), representando de 2 a 6% do peso corpóreo total (CECCALDI, 1989), sendo então considerado a maior glândula digestiva dos crustáceos. Ele desempenha função importante na assimilação de nutrientes e, provavelmente, representa a provisão de reserva de energia utilizada para o crescimento e metabolismo dos animais (DALL; MORIATY, 1983), sendo também denominado de: fígado, pâncreas, glândula do intestino médio, glândula gástrica, glândula digestiva, cecos anteriores, divertículo digestório, órgão digestivo, glândula intestinal média e hepatopâncreas (GIBSON; BARKER, 1979). Apesar disto, em 1974, van Weel sugeriu que o hepatopâncreas teria muitas funções diferentes do papel fisiológico do fígado (hepato) e do pâncreas de vertebrados e que esta região do intestino médio deveria, de forma mais adequada, ser chamada glândula do intestino médio. Porém, de acordo com Dall e Moriatty (1983) esta nova terminologia é improvável que seja aceita.

Anatomicamente, o hepatopâncreas é bem desenvolvido e similar na maioria dos decápodos (GIBSON; BARKER, 1979) e forma uma rede complexa de ductos e túbulos que terminam em fundo cego ocupando a maior parte da cavidade cefalotorácica (GIBSON; BARKER, 1979; FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009). De maneira geral, cada metade

deste órgão abre-se no interior do trato digestório via ductos principais; cada ducto divide-se em ductos secundários e terciários até terminar em túbulos que constituem a massa glandular (CECCALDI, 1989).

Na maioria dos decápodos, ele forma um par de glândulas ocupando ambos os lados do estômago (CECCALDI, 1989), mas o número de lobos pode variar entre as diferentes espécies (ICELY; NOTT, 1992), sendo descrita a presença de apenas um lobo em cada metade do hepatopâncreas em *Penaeus* sp (VOGT, 1985; LOVETT; FELDER, 1989) e *Caridina laevis* (PILLAI, 1960).

A coloração do hepatopâncreas varia de marrom a vermelho, verde, amarelo, azul, dependendo principalmente das reservas armazenadas. I- caroteno, zeaxantina e astaxantina são pigmentos encontrados (CECCALDI, 1989).

Os túbulos hepatopancreáticos podem estar divididos nas regiões: distal, média e proximal, relativas ao trato digestório principal (VOGT et al., 1989). Internamente, esses túbulos estão revestidos por um epitélio colunar simples (FACTOR; NAAR, 1985; ICELY; NOTT, 1992; BRUNET et al., 1994; CORRÊA Jr. et al., 2002) e, em decápodos, quatro tipos celulares têm sido identificados no epitélio deste órgão: embrionária (E), reabsortiva (R), fibrilar (F) e vesicular (B), de acordo com o esquema proposto por Jacobs (1928) e Hirsch e Jacobs (1928) para o hepatopâncreas da lagosta de água doce *Astacus leptodactylus*. A localização destas células é variável ao longo do comprimento do túbulo hepatopancreático, sendo as células E encontradas na porção distal e as R, ocorrendo na extensão do túbulo (ICELY; NOTT, 1992; CORRÊA Jr. et al., 2002).

As células E são indiferenciadas e responsáveis pela reposição celular do túbulo hepatopancreático uma vez que são capazes de sofrer mitoses. As F têm como papel principal a síntese e secreção de enzimas durante algumas fases do ciclo alimentar (ICELY; NOTT, 1992), enquanto que as B exercem papel na digestão intracelular (AL-MOHANNA; NOTT, 1986). Já as células R têm como funções a absorção de partículas do lúmen hepatopancreático e a estocagem do material na forma de glicogênio e de lipídios no citoplasma (AL-MOHANNA; NOTT, 1989; ICELY; NOTT, 1992).

A presença de mais um tipo celular, a célula M, tem sido registrada para alguns decápodos inferiores (AL-MOHANNA et al., 1985b; VOGT, 1985; PILLAI, 1960, PETERLE, 2011) e, brevemente descrita, para espécies superiores (HIRSCH; JACOBS, 1928; REDDY, 1938; FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009). Esta célula, encontrada em

menor número, está dispersa ao longo do túbulo, mas restrita a porção basal do epitélio, não mantendo contato com o lúmen do hepatopâncreas (ICELY; NOTT, 1992).

Diversos modelos têm proposto uma seqüência para a diferenciação destas células. O modelo mais aceito é o de Hirsch e Jacobs (1930) que propõe que as células R e F são derivadas, separadamente, das células E, sendo as B originadas a partir da diferenciação das células F. Apesar disto, Vogt (1985) apoia-se no modelo proposto por Ogura (1959), no qual cada tipo celular desenvolve-se independentemente das células E.

Ao redor de cada túbulo hepatopancreático, há finas fibras musculares circulares e longitudinais responsáveis pelo peristaltismo que permite o movimento de líquidos e de células pelo órgão. Sobre a circulação, é sabido que a artéria hepática, após deixar a região antero-ventral do coração, divide-se em dois ramos que leva a hemolinfa em direção à glândula digestória, mantendo esta íntima relação com a circulação hemolinfática geral. Entretanto, a inervação detalhada deste órgão é pouco conhecida (GIBSON; BARKER, 1979; CECCALDI, 1989).

O hepatopâncreas é considerado um indicador do metabolismo, da fase de ecdise, da condição nutricional e da presença de doenças em várias espécies de decápodos (AL-MOHANNA; NOTT, 1989; BAUTISTA et al., 1994; ROSAS et al., 1995). Assim, a análise histológica do hepatopâncreas tem sido aplicada para demonstrar a condição nutricional em culturas de camarões (REDDY et al., 1999; GIMENEZ et al., 2004).

Al-Mohanna e Nott (1989) apontam, ainda, que os pesos totais do hepatopâncreas e das reservas orgânicas e inorgânicas ficam reduzidos durante a muda e aumenta após o período de intermuda, visto que sofrem influências diretas da alimentação e da inanição (VOGT et al. 1985; STORCH; WELSCH, 1977; ICELY; NOTT, 1992). Além disto, pelo fato da glândula digestiva ser o maior centro de reservas em decápodos (GIBSON; BARKER, 1979), acredita-se que este órgão colabore para o desenvolvimento gonadal, visto que reservas de tecidos somáticos são transferidas durante a gametogênese (LAWRENCE, 1976).

Entretanto, excetuando o recente estudo de Peterle (2011) com o hepatopâncreas de fêmeas de *Xiphopenaeus kroyeri*, raros são os trabalhos que utilizaram a morfologia para caracterizar este órgão das espécies de camarões marinhos relacionando-o com o desenvolvimento das gônadas.

## BIOMONITORAMENTO

Nos últimos anos, as atividades antropológicas, juntamente com a grande expansão industrial, tem acarretado grande degradação ambiental, causando prejuízos, principalmente, nos recursos hídricos devido à geração e despejo de resíduos. Como consequência, fica comprometida a manutenção da biodiversidade aquática bem como do próprio ser humano.

De acordo com Sousa (2002), a ecotoxicologia aquática tem por objetivo estudar os efeitos das diversas substâncias químicas e de outros materiais, sejam eles de origem antropogênica ou natural, em determinado organismo. Estes efeitos podem causar desde pequenas mudanças de comportamento, alterações do crescimento e/ou da reprodução, até a morte a curto e longo prazo.

Os organismos aquáticos se encontram em ambientes que apresentam elementos naturalmente diluídos, inclusive poluentes. Normalmente, devido à sua diluição, os efeitos dos poluentes aquáticos não podem ser imediatamente reconhecidos nos organismos, tendo-se dificuldade de compreender quais são suas implicações no ambiente (BLOCKWELL et al., 1998).

Nos últimos anos, inúmeras técnicas vêm sendo empregadas em estudos ambientais para a análise das consequências causadas nos organismos devido à presença de poluentes. Estas ferramentas foram desenvolvidas a fim de se avaliar alterações bioquímicas, celulares, histológicas, fisiológicas e comportamentais resultantes da exposição a substâncias danosas aos organismos vivos coletados em campo ou expostos em laboratório. Dentre elas, pode-se citar: a análise das células micronucleadas, a detecção de quebras no DNA através do ensaio do cometa, a detecção de alterações morfológicas com técnicas de histopatologia, técnicas estas utilizadas no trabalho de David (2007).

Segundo Sunila (1987) apud David (2007), as análises histopatológicas fornecem informações sobre a saúde geral dos animais e sobre modificações teciduais específicas para os diferentes contaminantes. O mesmo autor sugere que quando estudos histopatológicos são utilizados em programas de monitoramento, as alterações observadas devem ter um significado ecológico, devendo representar um efeito adverso no crescimento, reprodução ou na sobrevivência do indivíduo e da população.

Torreblanca et al. (1987), Patil e Kaliwal (1989) e Soegianto et al. (1999a) observaram os efeitos histológicos de metais pesados como necrose do epitélio branquial, melanização e



outros efeitos histopatológicos em algumas espécies de crustáceos expostos a concentrações diferentes de chumbo, zinco e cádmio.

Apesar disto, estudos sobre biomonitoramento utilizando espécies de decápodos são raros. Recentemente, Martins et al. (2006) analisaram a ação de detergentes domésticos na glândula digestória, na embriogênese e na biologia reprodutiva do camarão de água doce *Macrobrachium olfersi* e demonstraram que tais produtos freqüentes nos efluentes urbanos influenciam o repertório comportamental, a reprodução e o desenvolvimento embrionário das espécies nativas de palemonídeos.

Trabalho utilizando técnicas ultraestruturais foi realizado por Gregory et al., em 2002, com filamentos branquiais de *Perna perna* expostos ao mercúrio onde foram mostradas alterações que, quando o bivalve manteve-se na ausência do metal, puderam ser revertidas.

A utilização do hepatopâncreas nas pesquisas ecotoxicológicas tem despertado grande interesse da comunidade científica devido a sua sensibilidade a poluentes solúveis em águas. Recentemente, Frías-Espéricueta et al. (2008) submetendo jovens de *Litopenaeus vannamei* a diferentes concentrações de cobre verificaram a influência deste elemento químico tanto nas brânquias como no hepatopâncreas, tendo encontrado mudanças estruturais que demonstraram a aplicabilidade destes órgãos como indicadores de poluição por metais pesados.

A organização celular do hepatopâncreas reflete suas funções primárias, tais como: secretória, de absorção, digestória e excretória. As alterações histológicas podem ser indicativas de perdas dessas diferentes funções, visto que o hepatopâncreas é o maior órgão de armazenamento de elementos tóxicos, sendo alvo nos crustáceos quando estes são expostos à ambiente aquáticos poluídos. Alguns exemplos relacionados à função do hepatopâncreas na detoxificação de poluentes, inclui a captura de elementos transurânicos pelos grânulos de fosfato de cálcio nas células R de *Cancer pagurus* (GUARY; NÉGREL, 1981 apud ICELY; NOTT, 1992), a desativação do inseticida dimetoato pelo retículo endoplasmático das células F de *Penaeus monoton* (VOGT, 1987) e a remoção de metais injetados na hemocele por diferentes rotas pelas células R e F de *Austropotamobius pallipes* (LYON; SIMKISS, 1884 apud ICELY; NOTT, 1992) e *Orconectes propinquus* (ROLDAN; SHIVERS, 1987 apud ICELY; NOTT, 1992).

Desta forma, trabalhos de monitoramento ecológico utilizando estruturas vitais de crustáceos são de suma importância, visto que esses organismos são sensíveis às alterações ambientais, podendo assim ser considerados indicadores de contaminação aquática



(RINDERHAGEN et al., 2000), auxiliando em trabalhos que visam identificar ambientes alterados, com fins de preservação e manutenção do equilíbrio trófico.

Em 2004, Alves-Costa e Costa verificaram os níveis de metais pesados no camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* na enseada de Ubatuba, São Paulo, em período que na região, segundo Mantelatto et al. (1999), há altos níveis de cobre, cádmio, cromo, chumbo e zinco o que coincide com a alta temporada, proporcionando um aumento da ação antrópica local (MANTELATTO; FRANSOZO, 1999). Apesar disto, Alves-Costa e Costa (2004) encontraram nos juvenis concentrações de metais abaixo daquelas consideradas letais e toleráveis para outras espécies, demonstrando que apesar de contaminada, a região de Ubatuba ainda fornecia condições de vida para os organismos.

Em estudo semelhante, Frías-Espéricueta et al. (2009), utilizando espectrofotometria, verificaram concentrações de Cd, Pb e Zn nos músculos e no hepatopâncreas de camarões *Litopenaeus vannamei* do noroeste do México, região esta contaminada por resíduos da agricultura, da indústria e por efluentes urbanos, níveis comparáveis ou menores que os encontrados em outros crustáceos de diferentes regiões geográficas e também menores que os limites comerciais permitidos, não oferecendo, portanto, riscos à saúde humana, no caso de consumo.

Deve-se considerar, entretanto, que todos os animais invertebrados acumulam, em seus tecidos, metais provenientes tanto do meio aquático como dos alimentos, sendo ou não estes essenciais para o metabolismo (RAINBOW, 2002). Além disto, invertebrados aquáticos diferentes, ainda que vivam em mesmo habitat, podem ter concentrações muito diferentes de metais traço (PHILLIPS; RAINBOW, 1994), mesmo entre táxons intimamente relacionados até espécies de mesmo gênero (MOORE; RAINBOW, 1987; RAINBOW, 1998).

Estes elementos tem o potencial de ligar-se a muitas moléculas, apresentando, segundo Nieboere Richardson (1980), afinidade principalmente por enxofre e nitrogênio. Desta forma, muitos aminoácidos presentes nas células e que possuem estes elementos em sua constituição podem apresentar sítios de ligação aos metais traço (RAINBOW, 1997), fazendo estes, potencialmente tóxicos e prevenindo as moléculas de atuarem em seu papel metabólico normal.

Apesar disto, muitos deles não podem ser excretados imediatamente ou serem detoxificados por desempenharem funções essenciais no metabolismo, como exemplos: o zinco que é componente chave de muitas enzimas e o cobre que é parte funcional da proteína

respiratória hemocianina encontrada em certos moluscos e artrópodos, particularmente crustáceos malacostracas (RAINBOW, 2002). Assim, certa quantidade de cada metal essencial é necessária no corpo, sendo possível uma estimativa teórica destas (RAINBOW, 1993) e, em caso de acumulação superior, tem o potencial de ser tóxico.

Já aqueles metais não-essenciais como o cádmio, chumbo ou mercúrio, não tem quantidade mínima necessária e precisam ser imediatamente excretados ou detoxificados (RAINBOW, 2002).

Um ponto a ser considerado sobre a importância das concentrações de metais traço acumuladas é o potencial destes serem transferidos ao longo da cadeia alimentar. Estes não são, como regra, bioacumulados ao longo das cadeias, sendo a concentração de cada nível trófico determinada pelo padrão de acumulação de uma espécie particular neste nível trófico, não sendo impossível, entretanto, haver três organismos ao longo da cadeia alimentar com acumulação crescente de metais traço (RAINBOW, 2002).

Considerando os diversos fatores acima expostos, o presente trabalho buscou, por meio de análises morfológicas, descrever detalhadamente a estrutura do hepatopâncreas do camarão peneídeo *Farfantepenaeus brasiliensis*, caracterizando, morfofisiologicamente, este órgão de importância vital. Ademais, devido à carência de estudos utilizando os decápodos no biomonitoramento, verificou-se a presença de metais pesados nestes camarões-rosa comparativamente aos camarões-sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri*, ambos provenientes do litoral sul do Espírito Santo, Brasil, bem como em amostras de água destes locais.

*Objetivos*

---

## II. OBJETIVOS

O presente projeto investigou e caracterizou a estrutura do hepatopâncreas dos camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* encontrados no litoral sul do Espírito Santo, bem como verificou a presença de metais pesados nesta espécie e em *Xiphopenaeus kroyeri*, peneídeos de grande importância econômica.

### Objetivos específicos:

- Caracterizar histológica e ultraestruturalmente o hepatopâncreas das fêmeas adultas de camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*;
- Verificar a presença de cálcio, proteínas, carboidratos e lipídios nas células hepatopancreáticas em fêmeas adultas desta espécie de camarão-rosa, sob microscopia de luz;
- Avaliar o grau de contaminação química da água nos diferentes pontos amostrados;
- Verificar a concentração dos metais pesados nos indivíduos desta espécie e de *Xiphopenaeus kroyeri*, buscando comparar os níveis de bioacumulação nestes animais e identificar uma ferramenta para análise ambiental.

## *Material e Métodos*

---

### III. MATERIAL E MÉTODOS

#### III.1. Coleta, Identificação, Mensuração e Sexagem dos camarões

##### III.1.1. Metodologia de Coleta

As coletas dos camarões das espécies *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Xiphopenaeus kroyeri* foram realizadas em Guarapari-P1 (S20°41'259") e Marataízes-P2 (S20°59'377"), respectivamente, sendo ambos os pontos localizados no litoral sul do Espírito Santo (Fig. 1). Para tal, utilizou-se uma embarcação modelo saveiro médio equipada com rede de arrasto do tipo "otter trawl", percorrendo uma extensão de aproximadamente dois quilômetros e com duração de cerca de 30 minutos cada arrasto.

As amostras de água de fundo foram obtidas em cada transecto utilizando-se uma garrafa de Van Dorn. As coordenadas dos pontos médios dos transectos foram obtidas com o auxílio de um GPS (Global Positioning System).



**Figura 1.** Locais de coleta no litoral sul do Espírito Santo, Brasil: Guarapari (P1) e Marataízes (P2).

Ao final de cada coleta, as redes foram recolhidas ao convés e todos os animais dos gêneros *Farfantepenaeus* e *Xiphopenaeus* foram triados e sexados com base na morfologia dos caracteres sexuais secundários, tais como, a abertura dos gonóporos feminino e masculino (localizado no 3° e 5° par de pereiópodos, respectivamente), presença do téllico (fêmea) e petasma (macho) e pela visualização do ovário através de transparência da carapaça.

Mensurações com uso de um paquímetro (0.01 mm) foram feitas para análise do comprimento da carapaça (CC) que compreende a distância entre a região intraorbital ao ponto mediano da margem posterior desta, sendo consideradas fêmeas adultas aquelas com CC superior a 20-22 mm. A determinação da maturidade sexual das fêmeas foi realizada por meio dos estágios gonadais seguindo os padrões descritos por Bauer e Lin (1994), sendo para as análises morfológicas, separadas as fêmeas em estágio gonadal esgotado e desenvolvido. Foram consideradas fêmeas desenvolvidas aquelas cujas gônadas, ocupando o cefalotórax e

abdômen, apresentavam coloração verde escura e, esgotadas, aquelas com gônadas flácidas, de cor amarelo-claro, ocupando apenas o cefalotórax.

Alguns exemplares foram colocados em sacos plásticos, etiquetados e acondicionados em caixa de isopor contendo gelo picado, e posteriormente, transportados para o laboratório do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Espírito Santo, CCA/UFES, em Alegre-ES, onde permaneceram congelados até as análises de concentração de metais pesados.

Após a análise do material biológico, 10 indivíduos de cada espécie foram acondicionados em frascos contendo álcool 70% e devidamente etiquetados, constituindo parte da coleção científica da UFES – Alegre/ES.



**Figura 2.** Camarão-rosa da espécie *Farfantepenaeus brasiliensis* (COSTA et. al, 2003, com permissão).



**Figura 3.** Camarão-sete-barbas da espécie *Xiphopenaeus kroyeri* (COSTA et. al, 2003, com permissão).



## **III.2. Análise Microscópica**

Aproximadamente 30 camarões *F. brasiliensis*, após anestesia a frio, tiveram o hepatopâncreas retirado e fixado ainda no local de coleta e, posteriormente, transportados para os laboratórios de Histologia e de Microscopia Eletrônica da UNESP- Rio Claro/SP para processamento e análise.

### **III.2.1. Microscopia de Luz**

#### **Processamento do Material para Histologia e Histoquímica**

Para as análises em microscopia de luz, a fixação do material foi realizada em solução específica para cada técnica. Para a aplicação da técnica histológica (Hematoxilina-Eosina), o hepatopâncreas foi fixado em paraformaldeído 4% durante 24 horas. Para os estudos histoquímicos, foi fixado, durante 24 horas, em paraformaldeído 4%, formol cálcio e Bouin aquoso para a detecção de proteínas (azul de bromofenol) e cálcio (von Kossa), lipídios (azul do Nilo e Baker) e de polissacarídeos (PAS/Azul de alcian), respectivamente.

Após a fixação, o material foi desidratado em banhos de 30 minutos cada em séries de álcoois em concentrações de 70-95% e transferido para resina de embebição onde permaneceu por 24 horas. A inclusão foi realizada em resina Leica e os blocos, depois de polimerizados em estufa (37°C), foram seccionados em micrótomo Leica RM 2145. As secções de 4µm de espessura foram recolhidas em lâminas de vidro, colocadas em estufa à 37°C e submetidas à coloração pelas técnicas a seguir:

#### **III.2.1.1. Análise Histológica**

##### **III.2.1.1.1. Técnica da Hematoxilina de Harris - Eosina Aquosa (Segundo JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983):**

As lâminas foram coradas com hematoxilina de Harris durante 10 minutos, lavadas em água corrente por 5 minutos, para retirada do excesso e reação do corante e, a seguir, coradas

com eosina durante 5 minutos. Após nova lavagem em água corrente, as lâminas foram secas à temperatura ambiente, montadas em bálsamo do Canadá para a observação.

### **III.2.1.2. Análise Histoquímica**

#### **III.2.1.2.1. Azul de bromofenol para detecção de proteínas totais (Segundo JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983)**

As lâminas foram coradas pelo azul de bromofenol durante 2 horas, à temperatura ambiente. Logo após, foram lavadas com ácido acético 0.5% por 5 minutos e com água corrente por 15 minutos e, a seguir, foram passadas rapidamente por solução de álcool butílico, diafanizadas em xilol e montadas em bálsamo do Canadá.

#### **III.2.1.2.2. Técnica de Baker para detecção de lipídios (Segundo BAKER, 1946)**

As lâminas foram tratadas com bicromato de cálcio por 18 horas, lavadas várias vezes em água destilada e a seguir, foram mantidas em hemateína ácida por 5 horas, à temperatura ambiente. Posteriormente, foi realizada a diferenciação em mistura Weigert 1%. Após lavagem em água destilada por várias vezes, as lâminas depois de secas, foram montadas com gelatina glicerinada.

#### **III.2.1.2.3. Técnica simultânea do Ácido Periódico-Schiff (PAS) e do Azul de Alcian para detecção de polissacarídeos neutros e ácidos (Segundo JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983)**

As lâminas foram coradas com Azul de alcian pH 2.5 durante 30 minutos e, posteriormente, lavadas com água destilada. A seguir, foram colocadas em ácido periódico 1% durante 5 minutos e passadas por nova lavagem em água destilada. Ficaram no reagente de Schiff por 30 minutos, no escuro, e foram submetidas à lavagem em água sulfurosa por 1 minuto e em água corrente por 10 minutos. Logo após, permaneceram na hematoxilina por 2 minutos e foram lavadas em água para reação. Após a secagem, foram diafanizadas em xilol e montadas em Bálsamo do Canadá.

#### **III.2.1.2.4. Von Kossa para detecção de cálcio (Segundo JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983)**

As lâminas foram deixadas por 20 minutos em nitrato de prata e, posteriormente, lavadas em água corrente. Ficaram durante 2 minutos em revelador D72 e, em seguida, em solução de tiosulfato por 5 minutos. A contra-coloração foi realizada com hematoxilina por 6 minutos. Após a lavagem em água, as lâminas foram secas e montadas em bálsamo do Canadá após a diafanização em xilol.

Depois de aplicadas todas as técnicas, as lâminas colocadas em suportes de madeira foram mantidas em estufa para secagem, excetuando-se aquelas montadas em gelatina glicerinada.

### **III.2.2. Microscopia Eletrônica**

#### **III.2.2.1. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET) - Rotina**

Fragmentos do hepatopâncreas de aproximadamente 15 fêmeas de *F. brasiliensis*, nos estágios desenvolvido e esgotado foram fixados em solução de glutaraldeído 2.5% em tampão cacodilato de sódio 0.1M (pH 7.2) durante 24 horas, à 4°C. A seguir, passaram por duas lavagens de 15 minutos cada em solução tampão cacodilato de sódio 0.1M. A pós-fixação foi realizada em tetróxido de ósmio 1% em solução tampão cacodilato de sódio 0.1M durante 2 horas, à temperatura ambiente, no escuro. Posteriormente, o material passou por mais duas lavagens de 15 minutos cada em solução tampão de cacodilato de sódio 0.1M e foi contrastado em solução de acetato de uranila 2% com acetona 10%, por 2 a 4 horas no escuro.

A desidratação foi realizada em série crescente de acetona 50% a 95% e 100% duas vezes, com duração de 5 minutos cada. Logo após, o material permaneceu em mistura de acetona e resina na proporção de 1:1 por 12 horas. O material foi incluído em resina pura com catalisador e colocado em estufa à 60°C por um período de 48 horas. Depois de polimerizados os blocos, foram feitas as secções ultrafinas, posteriormente, estas foram coletadas em grades de cobre e contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo durante 45 e 10 minutos, respectivamente.

As análises foram feitas sob Microscópio Eletrônico de Transmissão PHILLIPS 100 TEM, seguida da documentação fotográfica.

#### **III.2.2.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

Cerca de cinco hepatopâncreas de *F. brasiliensis*, depois de retirados, foram fixados em solução de Karnovsky por 24 horas. Posteriormente, foram submetidos à desidratação em série crescente de banhos com acetona 50%, 75%, 90%, 95% e 100% duas vezes, com duração de 30 minutos cada. Em seguida, o material foi submetido ao ponto crítico e depois colado em suporte de alumínio, onde recebeu camadas alternadas de ouro e de carbono.

Após o recobrimento, o material foi levado ao Microscópio Eletrônico de Varredura PHILIPS 505 SEM, para análise e documentação fotográfica.

### **III.3. Avaliação da Contaminação Química da Água por Metais Pesados**

A coleta e preservação das amostras de água foram de acordo com a recomendação do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo (2008), para verificação da presença de metais pesados.

Estas foram preservadas com HNO<sub>3</sub> a um pH aproximado de 2, mantidas em garrafas do tipo PET e refrigeradas a 4°C. Posteriormente, foram transportadas para o Centro de Pesquisas de Águas subterrâneas (CEPAS) do Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo (USP) para a verificação dos níveis dos elementos químicos Cu, Zn, Cd, Cr e Pb, sob Espectrofotômetro de Absorção Atômica GBC 932B Plus, tendo, cada amostra, um volume mínimo de 150mL. A leitura foi realizada em triplicata, sendo determinada a média das leituras.

### **III.4. Avaliação da Concentração Biológica de Metais Pesados**

Para a avaliação da concentração de metais pesados, os camarões foram transportados para o Laboratório de Análise Mineralógica do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa- UFV para leitura sob Espectrofotometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS).

No laboratório, 15 camarões inteiros de *F. brasiliensis* e 25 de *X. kroyeri* foram divididos em 5 subamostras, sendo cada uma submetida à secagem em estufas de circulação forçada, durante 72 horas, à temperatura de 68-72°C. A seguir, as amostras foram pesadas em balanças de precisão, moídas em moinho de facas de aço inox para homogeneização, e acondicionadas em frascos de vidro.

Cada amostra foi submetida à digestão nítrico-perclórica para determinação dos teores de Mn, Zn, Cu, Cr, Cd e Pb. Para isto, 0.5 g do material moído foi colocado em tubos de digestão, onde 10 mL da mistura de ácido nítrico e ácido perclórico (4:1) foram adicionados, dentro de capela de exaustão. Posteriormente, as amostras foram deixadas sobre chapa quente pré-aquecida à 80°C, até atingir, gradativamente, 200°C, tornando-se cristalina. Após o esfriamento, foi completado o volume para 25 mL com água deionizada.

As amostras padrões utilizadas para calibração deste equipamento foram produzidas a partir de soluções estoques com concentrações da ordem de 1000 ( $\pm 0,3\%$ ) ppm, sendo, posteriormente, realizada a leitura da concentração de cada um dos elementos.

A comparação dos níveis de metais pesados encontrados nas amostras de água das duas localidades, assim como entre estas e os camarões provenientes de cada ponto, foi realizada mediante ao teste F, completada com o teste T, ao nível de significância de 5% de probabilidade ( $\alpha=0,05$ ) (ZAR, 1996).

*Resultados*

---

#### IV. RESULTADOS

Os resultados obtidos foram apresentados na forma de artigos, contemplando cada um deles diferentes aspectos focalizados no presente estudo, com a finalidade de atingir os objetivos propostos.

Os artigos serão enviados para revistas especializadas e têm como denominação “capítulo”, sendo organizados da seguinte forma:

##### **Capítulo 1:**

Comparação morfo-funcional do hepatopâncreas de fêmeas do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) em dois estágios de desenvolvimento gonadal.

##### **Capítulo 2:**

Caracterização histoquímica do hepatopâncreas de fêmeas adultas do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) coletadas no litoral sul do Espírito Santo.

**Capítulo 3:**

Ultraestrutura das células R, F e B do epitélio hepatopancreático de camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea; Decapoda; Penaeoidea) coletados no litoral sul do Espírito Santo, Brasil.

**Capítulo 4:**

Níveis de metais pesados nas águas e em camarões *Xiphopenaeus kroyeri* e *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda) do litoral sul do Espírito Santo, Brasil.



# *Capítulo 1*

---

## CAPÍTULO 1

**Comparação morfo-funcional do hepatopâncreas de fêmeas do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) em dois estágios de desenvolvimento gonadal**

**Morphofunctional comparison of the hepatopancreas of females of *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) pink shrimp at two stages of gonadal development**

**AUTORES:** Erika Takagi Nunes<sup>1\*</sup>, Adriane Araújo Braga<sup>1</sup>, Maria Izabel Camargo-Mathias<sup>2</sup>

<sup>1</sup>. Departamento de Medicina Veterinária- Centro de Ciências Agrárias- Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/nº, Alegre/ES, Brasil, 29500-000.

<sup>2</sup>. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Av. 24A, 1515, Bela Vista, Rio Claro/SP, Brasil, 13506-765.

**\*Autora correspondente:** [erikatnunes@yahoo.com.br](mailto:erikatnunes@yahoo.com.br), Fone/FAX +55 28 3552-8666

## RESUMO

O hepatopâncreas, também conhecido como glândula do intestino médio ou glândula digestiva, de fêmeas *Dendrobranchiata Farfantepenaeus brasiliensis*, em dois diferentes estágios de desenvolvimento, foi morfológicamente descrito. O hepatopâncreas desta espécie de camarão é um órgão compacto, não-lobado, recoberto por um tecido conectivo dotado de poros que permitem o contato e as trocas com o conteúdo da hemolinfa. Na microscopia eletrônica de varredura nenhuma diferença é vista no que diz respeito ao tamanho e constituição glandular entre fêmeas com gônadas desenvolvidas e aquelas com gônadas esgotadas. Cinco tipos de células, diferentemente distribuídas ao longo do túbulo em fundo cego, são vistas no hepatopâncreas funcional: E (embrionárias), R (reabsortivas), F (fibrilares), B (vesiculares) e M (basais). Em microscopia de luz, as fêmeas com gônadas desenvolvidas mostram o hepatopâncreas com um epitélio mais alto, assim como comumente descrito para outros decápodos: células E fracamente basófilas e localizadas na porção distal do túbulo; numerosas células R com secreção apócrina e citoplasma multivacuolizado; células F, basófilas e com papel na síntese e secreção de proteínas; células B com um grande vacúolo apical e, algumas vezes, liberando seu conteúdo acidófilo em direção ao lúmen; e células M localizadas na região basal. O epitélio dos túbulos hepatopancreáticos de fêmeas com gônadas esgotadas é mais baixo, mais acidófilo e delimita um grande lúmen, onde podem ser vistas partes do citoplasma das células R e B. Neste estágio, as células M são as mais evidentes. Em geral, as células mostram alterações histológicas e algumas vezes, uma lâmina basal com dobras e retração de epitélio. Os resultados observados permitiram relacionar também com o estágio de muda dos camarões, levando-nos a inferir que as fêmeas com gônadas desenvolvidas estão provavelmente na fase final da pós-muda ou início da intermuda, quando reservas serão transferidas para os ovócitos que estão em desenvolvimento, enquanto aquelas com gônadas esgotadas, no final da fase de intermuda ou na fase de pré-muda, quando a reserva nutritiva é liberada do hepatopâncreas para possivelmente ser usada nos processos de formação da nova carapaça e/ou em outras atividades metabólicas.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, hepatopâncreas, glândula digestiva, histologia, ultramorfologia, glândula do intestino médio.

## ABSTRACT

The hepatopancreas also known as midgut gland or digestive gland of the dendrobranchiata *Farfantepenaeus brasiliensis* females at two different gonadal development stages was morphologically described. The hepatopancreas of this shrimp species is non-lobed compact organ and recovered by a connective tissue endowed with pores that permit contact and changes with haemolymph content. At scanning electron microscopy level no difference is seen in relation to size and to gland constitution between females with developed gonad and those with exhausted one. Five cells types differently distributed along the blind-ended tubules are seen dominating the functional hepatopancreas: E (embryonic), R (reabsorptive), F (fibrillar), B (vesicular) and M (midget). At light microscopy, females with developed gonad show hepatopancreas with a higher epithelium as commonly described to other decapods: E cells slightly basophilic and located at distal portion of the tubule; numerous R cells with apocrine secretion and multivacuolated cytoplasm; basophilic F cells with role in synthesis and protein secretion; B cells with a large apical vacuole, sometimes releasing their acidophilus content toward the lumen; and the round M cells basally located. The epithelium of hepatopancreatic tubules from exhausted gonad females are lower, more acidophilus and delimit a larger lumen where parts of R and B cells cytoplasm can be seen; the M cells are the most evident. In general, these cells show histological alterations and sometimes a folded basal lamina and a retracted epithelium. The observed results allowed to relate also with the stages of moult of the shrimps, leading us to infer that the females with developed gonads are probably in the final stages of postmoult when reserves will be transferred to developing oocytes, while those with exhausted gonads are at the end of phase intermoult or at premoult phase when the nutritive material is released from the hepatopancreas to be used in new carapace formation and/or in other metabolic activities.

**KEYWORDS:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, hepatopancreas, digestive gland, histology, ultramorphology, midgut gland.

## INTRODUÇÃO

Os crustáceos são artrópodes essencialmente marinhos dominantes no plâncton e estão entre um dos quatro grupos mais importantes dos bentos, tanto em relação às espécies macroscópicas quanto às intersticiais (BARNES; OLIVE, 1995). Estes, segundo Schemy (1980), são considerados um dos principais grupos zoológicos do mar, tanto como integrantes das comunidades marinhas, quanto fonte de recursos para o homem, além de desempenharem papel de fundamental importância na cadeia alimentar aquática e na dinâmica dos ecossistemas.

Dentre os crustáceos, os camarões Dendrobranchiata representam o principal produto pesqueiro brasileiro de exportação (IBAMA, 2004), sendo valiosos recursos para a pesca e aquicultura nas regiões tropicais e subtropicais do mundo. Além disto, pelo seu acentuado valor nutritivo e gastronômico, o camarão constitui fonte de emprego e renda para milhares de pessoas, tendo a sua pesca uma significativa importância econômica, social e cultural (BRANCO, 2005).

A maioria das espécies comerciais de camarões pertence às famílias Aristeidae, Penaeidae, Sicyoniidae, Solenoceridae e Sergestidae (FAO, 2002). Segundo D’Incao (1999), os peneídeos são os responsáveis pela maior parte das capturas mundiais, estimadas em torno de 700 mil toneladas por ano, com o gênero *Farfantepenaeus* envolvendo as espécies de maior valor econômico.

*Farfantepenaeus* possui oito espécies distribuídas em todo o mundo, sendo *F. brasiliensis*, vulgarmente conhecido como camarão-rosa, uma espécie encontrada desde o Atlântico Ocidental dos EUA até o sul do litoral brasileiro, estando presente desde o estado do Amapá até o Rio Grande do Sul, Brasil (COSTA et al., 2003).

De acordo com Iwai (1978), os camarões-rosa apresentam uma fase marinha e outra estuarina durante seu ciclo de vida: na primeira, ocorre a reprodução e o desenvolvimento larval, enquanto na outra fase, há rápido crescimento dos juvenis que, posteriormente, migrarão para o oceano a fim de completar o ciclo de vida no mar aberto. Segundo Lopes et al. (2007), os organismos marinhos podem apresentar variações nos padrões de atividade durante as fases larval e adulta, podendo ocupar ambientes diferenciados para alimentação ou ainda, dividir o mesmo ambiente em períodos diferentes, a fim de evitar a competição por alimento.

A sazonalidade do desenvolvimento das gônadas está associada ao armazenamento de reservas orgânicas e minerais de tecidos somáticos que são transferidas durante a gametogênese (LAWRENCE, 1976). Sendo assim, o hepatopâncreas que é o maior centro de reservas orgânicas e inorgânicas em decápodos (GIBSON; BARKER, 1979), tem sido alvo de estudos, pois se espera que haja mobilização destas reservas para maturação gonadal.

Considerado o maior órgão dos decápodos, o hepatopâncreas representa cerca de 2-6% do peso corpóreo total e, na maioria das espécies, é constituído por um par de glândulas que ocupa um grande volume no interior do cefalotórax (CECCALDI, 1989). É também conhecido como fígado, pâncreas, glândula do intestino médio, glândula gástrica, cecos anteriores, divertículo digestório, órgão digestivo, glândula intestinal média ou glândula digestiva (GIBSON; BARKER, 1979).

Esta glândula apresenta diferentes níveis de complexidade entre as espécies de Decapoda e mostra-se essencial para a digestão, absorção, estoque de lipídios, glicogênio e minerais, além de exercer papel na osmorregulação (HRYNIEWIECK-SZYFTER; BABULA, 1997; CUARTAS, 2003), excreção (AL-MOHANNA; NOTT, 1989), distribuição de reservas durante a intermuda (CECCALDI, 1989) e desintoxicação (GIBSON; BARKER, 1979; VOGT, 1994).

Muitos autores têm avaliado as alterações morfológicas do hepatopâncreas durante o ciclo de intermuda (TRAVIS, 1955; 1957; SZYFTER, 1966; ADIYODI; ADIYODI, 1972; AL-MOHANNA; NOTT, 1989; KAMESWARAMMA et al., 1990; SOUSA; PETRIELLA, 2001; ZILLI et al., 2003). Estes pesquisadores registraram mudanças citológicas e histoquímicas significativas, demonstrando a importância desta glândula na mobilização de reservas, assim como na absorção e liberação de cálcio para a formação de nova carapaça.

Sabe-se que o hepatopâncreas é um órgão fisiologicamente dinâmico e, como apontado por Esteve e Herrera, em 2000, a histologia mostra-se uma importante ferramenta na avaliação das mudanças teciduais que ocorrem, por exemplo, durante as fases de muda e de reprodução dos crustáceos, além de evidenciar alterações morfofuncionais neste órgão devido às variações naturais ou antropogênicas do meio ambiente (VOGT et al., 1985; AL-MOHANNA; NOTT, 1989; ESTEVE; HERRERA, 2000; PINHO et al., 2003). Entretanto, as mudanças histológicas sofridas por este órgão relacionando-as com o estágio de desenvolvimento gonadal não foram examinadas em estudos anteriores realizados com camarão-rosa.

Considerando o aumento da pressão pesqueira e a importância social e econômica desse recurso, há a necessidade de se obter informações precisas para o desenvolvimento de um plano de manejo adequado. Assim, o conhecimento da dinâmica reprodutiva, bem como do papel exercido pelo hepatopâncreas neste processo são importantes, visto que a reprodução dessas espécies é responsável pela renovação do estoque natural.

Deste modo, o presente trabalho visou analisar o estado morfológico e funcional do hepatopâncreas de *Farfantepenaeus brasiliensis* encontrados no litoral sul do Espírito Santo, Brasil, relacionando este órgão com os aspectos reprodutivos, a fim de colaborar com novas informações para futuros estudos que envolvam cultivo de camarões de relevância econômica.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Camarões**

Camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* adultos (comprimento da carapaça > 20-22 mm) foram coletados em Guarapari (S20°41'259"), litoral sul do Estado do Espírito Santo, Brasil, sendo separadas cerca de 15 fêmeas em estágio gonadal esgotado e 15 com gônadas desenvolvidas. A determinação da maturação sexual foi estabelecida de acordo com os padrões descritos por Bauer e Lin (1994), sendo consideradas fêmeas desenvolvidas aquelas cujas gônadas, ocupando o cefalotórax e abdômen, apresentavam coloração verde escura e, esgotadas, aquelas com gônadas flácidas, de cor amarelo-claro, ocupando apenas o cefalotórax.

### **Microscopia Eletrônica de Varredura**

Para o estudo ultramorfológico, depois de fixado pela solução de Karnovsky (glutaraldeído a 2%, paraformaldeído 4% em tampão fosfato 0,1M, pH 7.3) por 24 horas, o hepatopâncreas foi desidratado em banhos em série crescente de acetona (70%, 80%, 90%, 95%, 100%, 100%), com duração de 10 minutos cada. Na seqüência, o material foi levado ao ponto crítico e fixado em suporte de metal para receber camadas alternadas de ouro e carbono. A seguir, foi analisado e fotografado no Microscópio Eletrônico de Varredura PHILIPS 505

do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biociências da UNESP- Rio Claro, SP, Brasil.

### **Microscopia de Luz**

Para a análise em microscopia de luz, o hepatopâncreas foi fixado em solução de paraformoldeído 4%, durante 24 horas e desidratado em banhos de etanol em série crescente (70, 80, 90 e 95%), com duração de 15 minutos cada. A inclusão foi realizada em moldes plásticos contendo resina Leica e, após a polimerização dos blocos, o material foi seccionado com navalhas de vidro em Micrótomo rotativo Leica RM 2145. As secções de 5µm de espessura foram coletadas em lâminas de vidro e coradas com hematoxilina-eosina (HE), de acordo com Junqueira e Junqueira (1983). Posteriormente, o material foi observado e fotografado em fotomicroscópio Motic BA300 do Laboratório de Histologia do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências, UNESP – Rio Claro, SP, Brasil.

## **RESULTADOS**

### **Observação Macroscópica e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)**

O hepatopâncreas, também conhecido como glândula digestiva, é um órgão de coloração amarelo-acastanhada localizado na região média-caudal do cefalotórax, representando a maior parte do volume do intestino médio dos camarões.

Nas fêmeas adultas *Farfantepenaeus brasiliensis* com gônadas desenvolvidas, bem como naquelas em estágio esgotado, este órgão apresenta tamanho semelhante, sendo possível distinguir duas extremidades: uma anterior, mais dilatada e próxima ao estômago e outra posterior, estreita que faz comunicação com o intestino propriamente dito (Fig. 2A). Nesta espécie, não é observada lobação, apresentando-se como um órgão único revestido, externamente, por espessa membrana conjuntiva dotada de poros (Fig. 2B). Estruturalmente, é formada por muitos túbulos que terminam em fundo-cego, recobertos por fina membrana conjuntiva, havendo um pequeno espaço intertubular. Em secção transversal, é possível observar o diâmetro do lúmen dos túbulos, bem como as diferentes morfologias e a grande quantidade de vacúolos nas células que constituem o epitélio (Fig. 2C).



## Histologia

A análise histológica demonstra que cada túbulo secretor hepatopancreático de *Farfantepenaeus brasiliensis* é constituído por epitélio pseudoestratificado colunar onde são encontrados cinco tipos celulares: célula E, célula F, célula R, célula B e célula M (Fig. 1, 3A, C-F). Estas revestem um lúmen cujo diâmetro varia ao longo do túbulo e se encontram distribuídas irregularmente, havendo predominância de um ou mais tipo celular de acordo com a região. Sendo assim, nas secções transversais são observadas diversas configurações de lúmen, de acordo com a altura do epitélio (Fig. 3B).

Ao redor de cada túbulo secretor, preenchendo todo o espaço intertubular, há a presença de um discreto tecido conjuntivo frouxo com células mioepiteliais e células da hemolinfa (Fig. 3A, C-F).

As células E (indiferenciadas) são geralmente cilíndricas, localizam-se na extremidade da região distal do túbulo hepatopancreático (região do fundo cego) e seu citoplasma é pouco basófilo (Fig. 3A). O núcleo é arredondado e com vários nucléolos (Fig. 3C).

As células R (reabsortivas) são as mais numerosas, cilíndricas e distribuídas ao longo de todo o túbulo. Seu citoplasma é basófilo e marcado pela presença de grande quantidade de vacúolos de diferentes tamanhos, tanto na região apical como na basal. O núcleo é basal e com nucléolo evidente. Em seu ápice, pode ser visto uma discreta borda em escova (Fig. 3D, E).

As células F (fibrilares) estão em maior quantidade nas regiões média e distal do túbulo secretor, sob a forma cilíndrica. Este tipo celular é destacado pela presença de material basófilo no citoplasma sendo possível observar ainda pequenos vacúolos na região subapical e, em alguns casos, na porção basal da célula. O núcleo grande, arredondado e com cromatina de aparência granulosa está localizado na região centro-basal da célula. Estas células também apresentam a borda em escova (Fig. 3D, F).

As células B (vesiculares) estão presentes em maior quantidade na porção médio-proximal do túbulo secretor e possuem formato que varia de cilíndrico a globular. No citoplasma observam-se vários vacúolos supranucleares que se fundem para formar um grande vacúolo com conteúdo acidófilo e que ocupa a maior parte citoplasmática (Fig. 3D, E). Além destes, vacúolos menores e com diferentes tamanhos são observados próximos ao núcleo. O núcleo é basal e possui cromatina granulosa e nucléolos evidentes. Este apresenta

forma arredondada nos estágios iniciais de diferenciação e posteriormente, devido ao aumento do tamanho dos vacúolos, pode se tornar achatado. Algumas destas células estão rompidas e liberando vesículas na região apical, juntamente com porções do seu citoplasma, em direção ao lúmen do túbulo. A membrana celular voltada para o lúmen apresenta borda em escova (Fig. 3D, E).

As células M (basal) são redondas e estão localizadas na região periférica do túbulo hepatopancreático, próximas à membrana basal. Seu citoplasma apresenta-se geralmente basófilo podendo, em algumas células, serem também observadas algumas manchas eosinofílicas. O núcleo é redondo, ocupa cerca de metade do volume celular, sendo o nucléolo bastante evidente. Esta célula não tem contato com o lúmen do túbulo (Fig. 3F).

O hepatopâncreas proveniente de fêmeas *F. brasiliensis* com gônadas desenvolvidas apresenta-se organizado, com as células F, B, R, E e M com morfologia e distribuição como anteriormente descrito (Fig. 3).

Já os túbulos hepatopancreáticos de fêmeas com a gônada em estágio esgotado apresenta uma morfologia diferenciada. O epitélio é escamoso ou cúbico, exceto as células E que se mantêm cilíndricas e localizadas na porção distal do túbulo (Fig. 4A). As demais células tendem ao formato cúbico (Fig. 4D). Além disto, o revestimento epitelial, de modo geral, é mais acidófilo e o lúmen do túbulo mais calibroso quando comparado àquele observado nas fêmeas com gônadas desenvolvidas, sendo este preenchido por conteúdo proveniente dos vacúolos das células B, bem como de parte das células R e B (Fig. 4B, D-F).

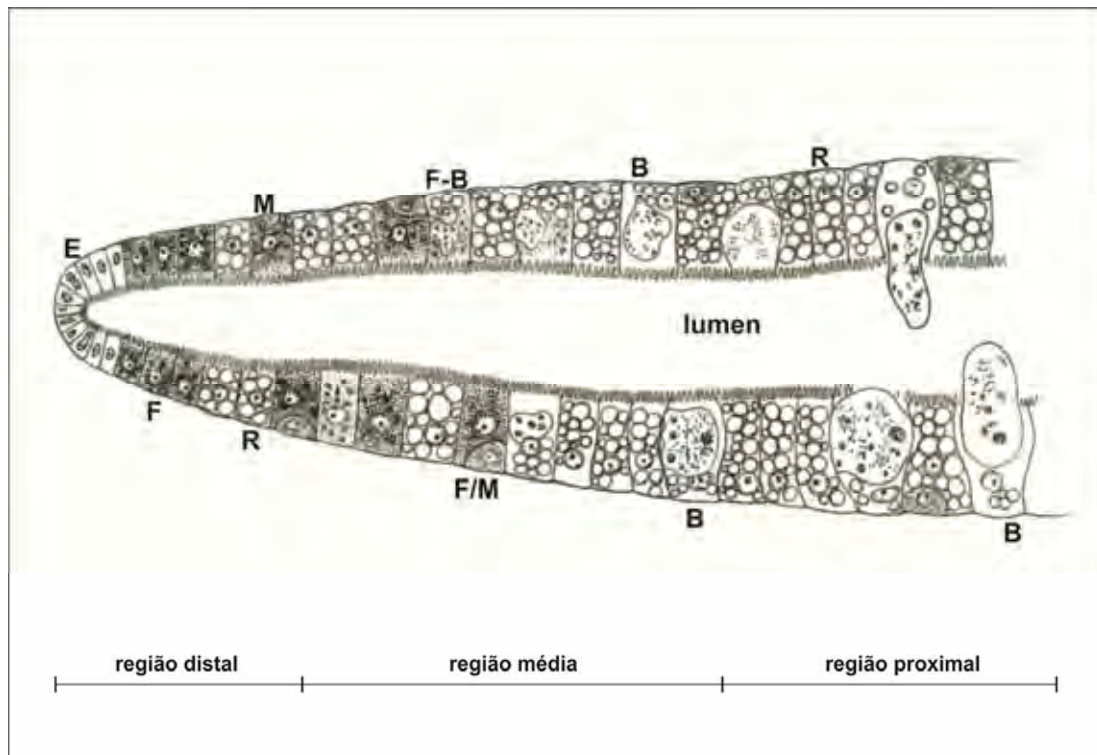
Fêmeas com gônadas esgotadas apresentam o hepatopâncreas com muitas diferenças morfológicas nos diferentes tipos celulares. A grande maioria das células B já sofreu ou está em processo de extrusão de seus vacúolos (Fig. 4B-F). As células R, de maneira semelhante, perdem parte de seu citoplasma apical, restando apenas poucos vacúolos e o núcleo imerso na porção citoplasmática basal, podendo, entretanto ocorrer secreção do tipo holócrina (Fig. 4C). As células F, quando presentes, são identificadas pela maior basofilia quando comparadas as demais células. Já as M tornam-se bastante evidentes, entretanto, o núcleo apresenta-se menor e muitos pontos de acidofilia são vistos no citoplasma antes muito basófilo, junto aos pequenos vacúolos (Fig. 4D, E).

De maneira geral, os núcleos destas células possuem morfologia semelhante às respectivas células observadas nas fêmeas com gônadas desenvolvidas, porém com localização alterada devido à perda de parte do citoplasma o que também dificulta a observação da borda em escova.

Em alguns túbulos, o epitélio apresenta-se desorganizado ou retraído, com células não identificadas e desprendidas da lâmina basal com dobras, delimitando um lúmen irregular (Fig. 3C, D).

# FIGURAS

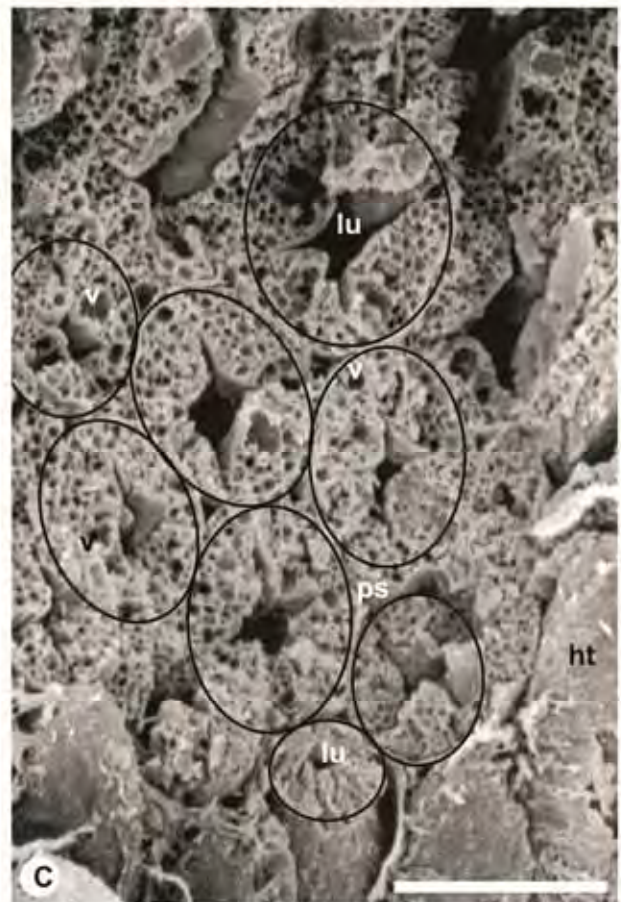
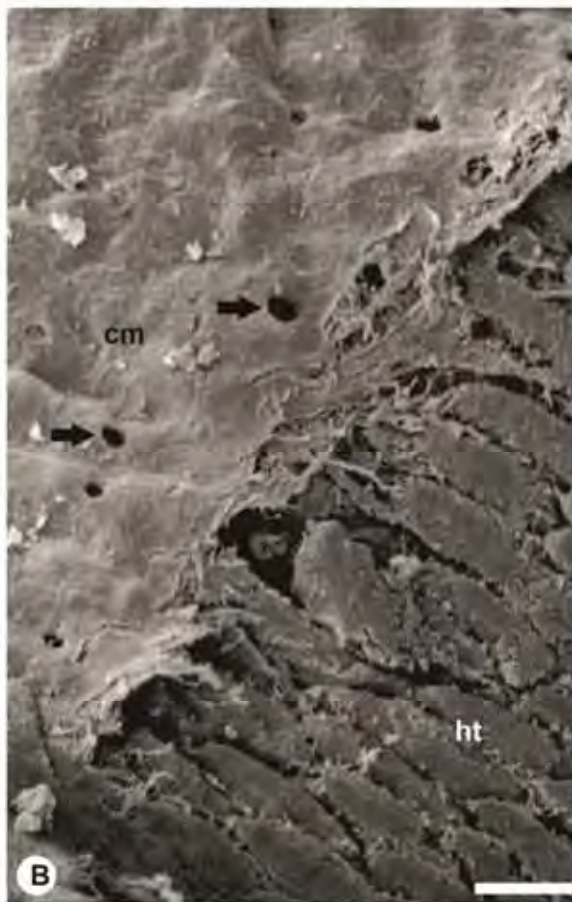
---



**Figura 1:** Representação esquemática da organização de um túbulo hepatopancreático em vista longitudinal. Observe a distribuição de cada tipo celular ao longo do túbulo: célula E (**E**) na região em fundo cego; célula R (**R**) e célula M (**M**) ao longo de todo o túbulo; célula F (**F**) localizada principalmente na região média-distal enquanto a célula B (**B**), na região média-proximal; **F-B**= célula F se diferenciando B, **F/M**= célula F voltada para o lúmen e célula M periférica.

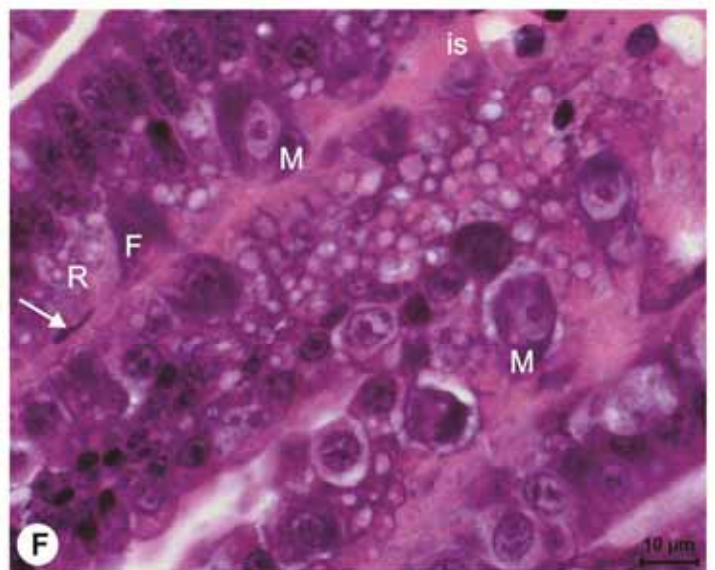
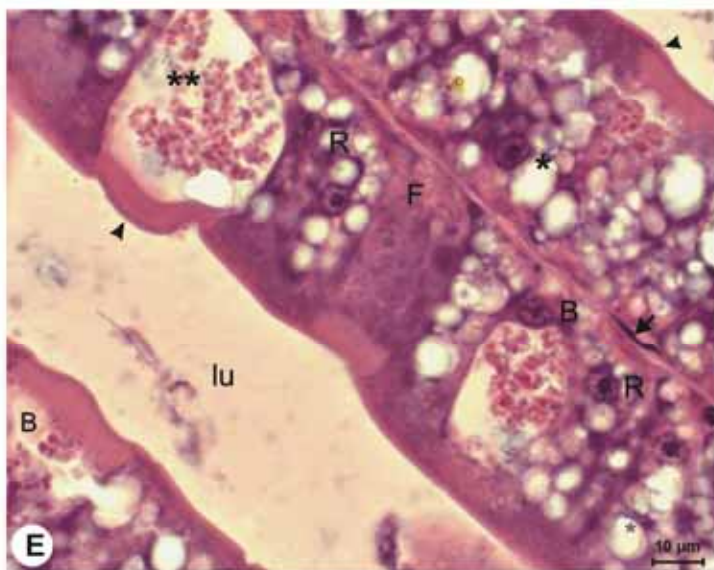
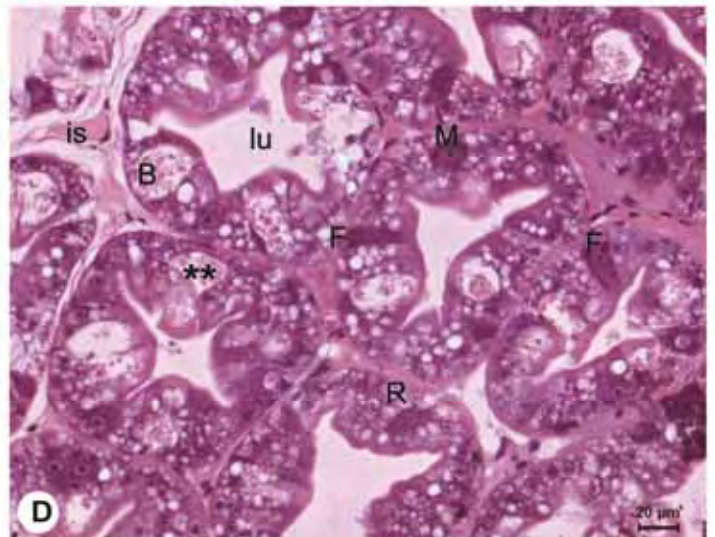
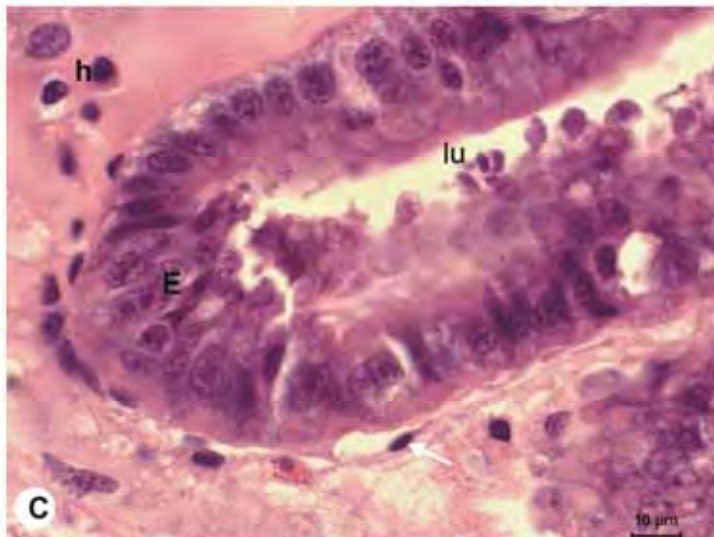
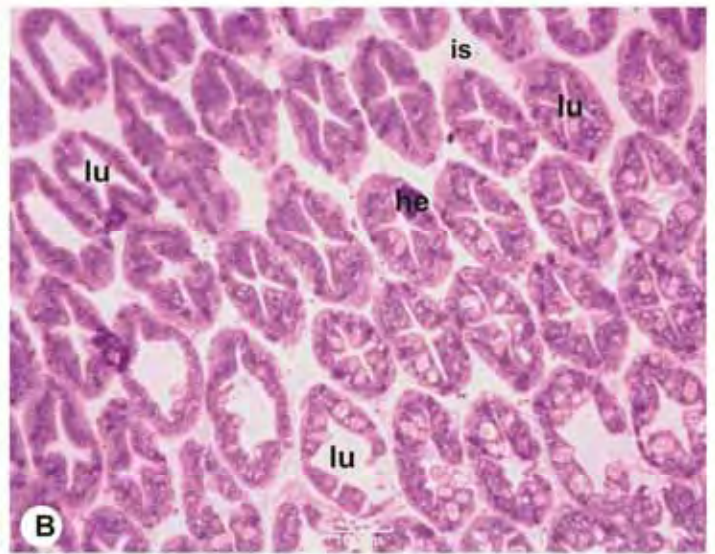
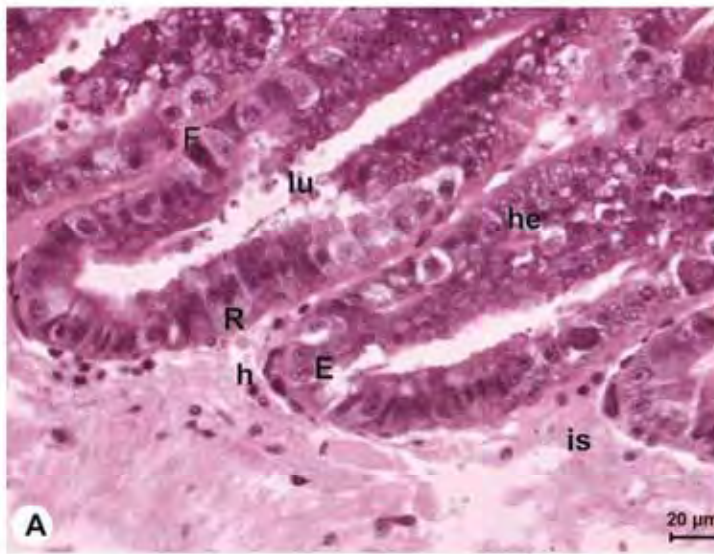
**Figura 2.** Eletromicrografia do hepatopâncreas de fêmeas adultas de *Farfantepenaeus brasiliensis*. **A.** Observe o revestimento de tecido conectivo (**cm**) dotado de poros (**seta**), a ausência de lobação e os túbulos hepatopancreáticos (**ht**) do órgão. **B.** Detalhe dos túbulos hepatopancreáticos, tecido conectivo e poros. **C.** Os círculos destacam os túbulos transversalmente seccionados com lumens (**lu**) de diferentes morfologias e delimitados por células vacuolizadas (**v**). **i**= intestino; **ps**= espaço peritubular. **Barras:** A= 1mm; B-C= 0.1mm.





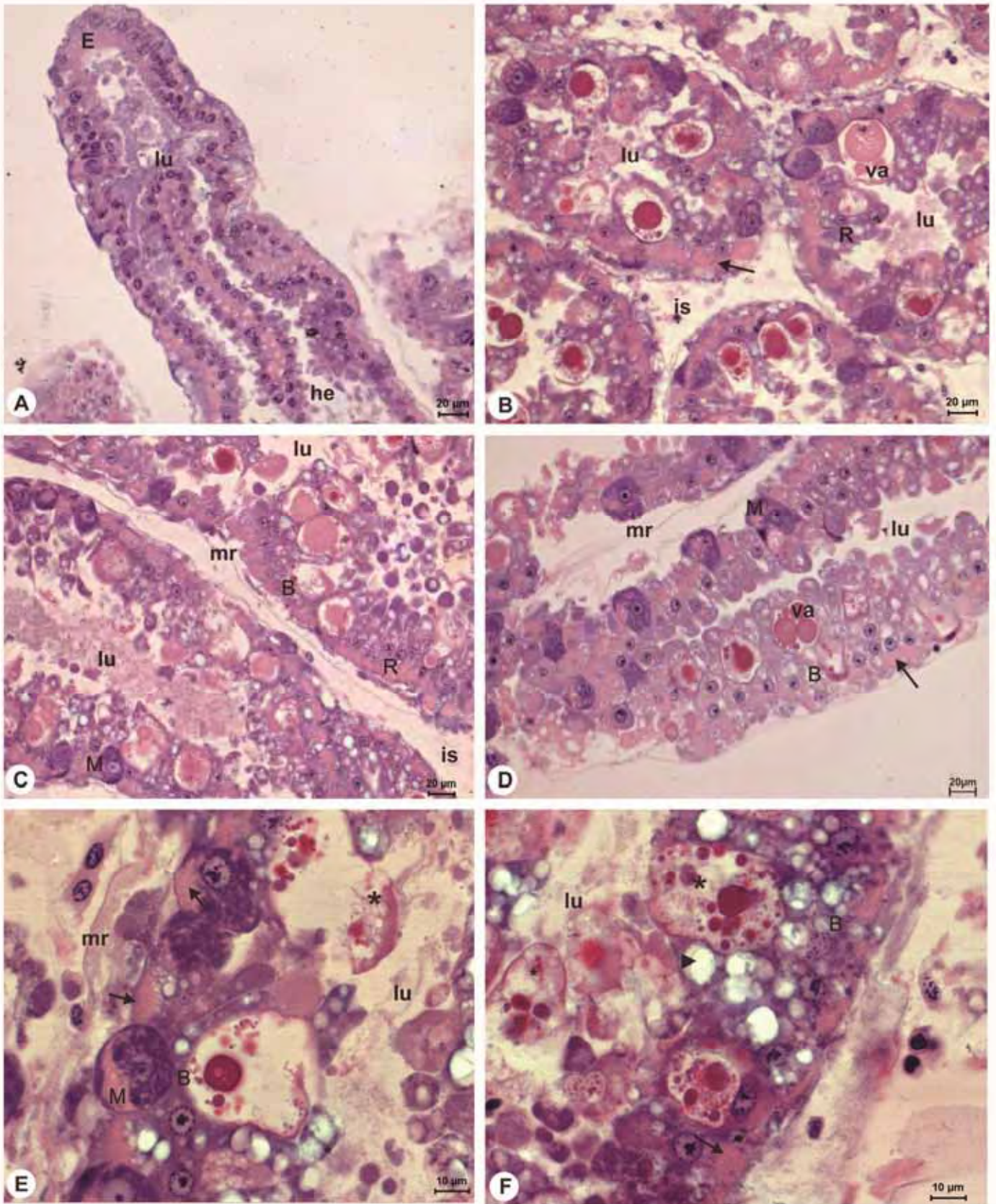
**Figura 3.** Secções histológicas do hepatopâncreas de fêmeas de *Farfantepenaeus brasiliensis* com gônadas desenvolvidas. **A.** Região distal com as células R (**R**), F (**F**) e E (**E**) do epitélio hepatopancreático (**he**) delimitando um lúmen (**lu**). **B.** Secção transversal dos túbulos mostrando lumens com diferentes morfologias. **C.** Detalhe da região distal do túbulo evidenciando as células E e células no espaço intertubular (**seta**). **D- E.** Detalhe do epitélio hepatopancreático. Observe a basofilia das células F que é perdida conforme estas se diferenciam em células B (**B**) e o grande vacúolo apical (\*\*\*) com conteúdo acidófilo na célula B. No citoplasma das células R podem ser vistos vacúolos (\*) de vários tamanhos. **F.** Note a célula M (**M**) localizada na região periférica do túbulo. **h**= hemócitos; **ponta da seta**= borda em escova.





**Figura 4.** Hepatopâncreas de fêmeas adultas de *Farfantepenaeus brasiliensis* com gônadas esgotadas. **A.** Observe a presença de um epitélio mais baixo e a célula E (**E**) na porção distal do túbulo (**he**). **B-D.** Note o grande lúmen (**lu**) preenchido com parte do citoplasma das células B (**B**) e R (**R**), a retração de membrana (**mr**). **E-F.** epitélio hepatopancreático mostrando a predominância das células M (**M**) cúbicas e a intensa acidofilia (**seta**) conforme ocorre a extrusão do conteúdo das células R e B (\*). **va**= grande vacúolo da célula B; **ponta da seta**= vacúolos das células R; **is**= espaço intertubular.





## DISCUSSÃO

O hepatopâncreas dos crustáceos passa por modificações morfofuncionais respondendo a diversos fatores como alimentação (STORCH; WELSH, 1977), variações de temperatura, estágio de muda (CHAVEZ-CROOKER et al., 2003) ou reprodução (PETERLE, 2011), contaminação por pesticidas ou metais pesados (PAPATHANASSIOU; KING, 1984), etc.

Os resultados do presente estudo ultramorfológico, entretanto, não evidenciaram modificações no tamanho e na constituição desta glândula digestiva quando se comparou as fêmeas com gônadas desenvolvidas àquelas com gônadas já esgotadas. Isso indica que, por ser fonte de reservas, esta glândula encontra-se sempre desenvolvida, seja para participar dos processos da ovogênese, formação e endurecimento da carapaça ou para o suprimento de energia nas fases em que a alimentação não ocorre. Entretanto, Ribeiro (2006) encontrou diferenças nos índices hepatossomáticos (peso médio do hepatopâncreas em relação ao peso corpóreo total) de acordo com os estágios de maturação ovariana em fêmeas de *Macrobrachium amazonicum*, sendo maiores naquelas com ovários em estágios II, III e IV e menores em fêmeas com ovários em estágios I e V.

A técnica de microscopia eletrônica de varredura também demonstrou que a glândula não se apresenta lobada, sendo um órgão maciço que faz contato com o estômago e intestino e que possui um revestimento de tecido conjuntivo dotado de poros permitindo um contato direto e trocas entre suas células e a hemolinfa circulante. A presença de apenas um lobo em cada metade do órgão foi descrita para várias espécies, entre elas *Penaeus* spp. (VOGT, 1985; LOVETT; FELDER, 1989), *M. amazonicum* (FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009) e *Caridina laevis* (PILLAI, 1992), apesar de poder haver um número variável de lobos nas diferentes espécies (ICELY; NOTT, 1992).

A glândula digestiva de *F. brasiliensis* apresenta túbulos em fundo cego constituídos por um epitélio pseudoestratificado formado pelas células embrionárias (E), fibrilares (F), reabsortivas (R), vesiculares (B) e basais (M). Resultados semelhantes foram descritos nos trabalhos de Al-Mohanna e Nott (1989), Ramadevi et al. (1990), Vogt (1994); Ribeiro (2006), Papa (2007), Franceschini-Vicentini et al. (2009). Entretanto, nas espécies *Palaemonetes argentinus* (SOUSA et al., 2005), *Penaeus vannamei* (CACECI et al., 1988), *Astacus astacus* (VOGT et al., 1989), *Carcinus maenas* (HOPKIN; NOTT, 1980) e *Ucides cordatus* (VALENTIM-NETO, 2004; MARCOLIN et al., 2008), a célula M não foi identificada.

Comparando-se os dois estágios gonadais das fêmeas de *F. brasiliensis* aqui estudados, diferenças morfológicas foram detectadas no epitélio hepatopancreático, sendo nas fêmeas com gônadas desenvolvidas observadas células colunares enquanto naquelas esgotadas, epitélio mais baixo delimitando um lúmen mais calibroso, mantendo-se apenas as células embrionárias com a forma cilíndrica. Estas diferenças estariam relacionadas com a atividade celular, uma vez que no estágio desenvolvido as células hepatopancreáticas estariam ativas na síntese da secreção para os processos digestivos, portanto mais altas, enquanto no estágio esgotado, o epitélio mostrar-se-ia desorganizado e mais baixo devido à liberação de materiais residuais para serem excretados ou ainda, para participar de atividades metabólicas, como por exemplo, a formação e desenvolvimento de novos ovócitos. Esta relação dos estágios de maturação gonadal com a glândula digestiva foi anteriormente apontada por Ribeiro (2006) em estudos com *M. amazonicum*.

Alterações na altura do epitélio também foram apontadas por Marcolin et al. (2008), em *U. cordatus*, que descreveram o epitélio como sendo colunar baixo na intermuda inicial e pseudoestratificado colunar na pré-muda inicial, além de maior espaço intertubular, hipertrofia das células R e B e preenchimento do lúmen pelo material secretado.

As mudanças na morfologia do lúmen dos túbulos hepatopancreáticos observadas entre os estágios aqui estudados são explicadas pelas diferentes fases de atividade, estando também relacionadas com a presença de células mioepiteliais, as quais são as responsáveis pela contração celular e conseqüente eliminação da secreção.

Alguns autores têm apontado que este órgão também pode alterar sua morfologia em reação às mudanças ambientais. A perda dos limites celulares, dilatação dos túbulos, descamação e atrofia epitelial foram observadas por Sousa e Petriella, em 2007, no hepatopâncreas de *P. argentinus* provenientes de ambiente poluído. Entretanto, como no presente estudo os indivíduos de ambos os estágios gonadais foram provenientes de mesmo ponto de coleta e mantidos sob as mesmas condições, as alterações observadas nas fêmeas esgotadas, provavelmente não são decorrentes de contaminantes e sim, das atividades de digestão, reprodução e/ou muda.

Como apontado por Icely e Nott (1992), a predominância de cada tipo celular varia ao longo do túbulo hepatopancreático. As células E estiveram presentes e localizadas na região distal do túbulo secretor de todas as fêmeas aqui estudadas, corroborando Marcolin et al. (2008) e Franceschini-Vicentini et al. (2009) que analisaram, respectivamente, as características hepatopancreáticas nos estágios de intermuda e pré-muda iniciais de *U. cordatus* e nos diferentes estágios gonadais de *M. amazonicum*. Entretanto, estes autores as



observaram muito coradas pela hematoxilina-eosina e de formato cúbico enquanto em *F. brasiliensis* estas foram vistas fracamente coradas e colunares nas fêmeas com gônadas desenvolvidas.

A manutenção da morfologia das células E, independentemente do estágio de muda, alimentação e/ou reprodução poderia ser justificada pelo importante papel que estas células desempenhariam na reposição do epitélio, funcionando como célula-fonte por terem a capacidade de se dividir por mitoses. Entretanto, alguns autores apontam que estas células originam apenas as células F e R, sendo a B proveniente da diferenciação daquelas F (HOPKIN; NOTT, 1980; AL-MOHANNA et al., 1985a; ZILLI et al., 2003; RIBEIRO, 2006) enquanto outros afirmam ainda que estas dão origem a todos os tipos celulares (VOGT, 1994; SOUSA; PETRIELLA, 2000). As características morfológicas aqui observadas são indicativas que em *F. brasiliensis* apenas as células especializadas M, F e R originam-se independentemente a partir das células embrionárias.

Apesar de ser capaz de sofrer mitoses, é provável, segundo Icery e Nott (1992), que as divisões celulares não sejam observadas em alguns estudos, como este com *F. brasiliensis*, pois estas ocorrem em períodos curtos do ciclo digestivo, até 24 horas após a alimentação.

Já as células reabsortivas (R) ou secretoras (B) foram principalmente observadas na região média-proximal do túbulo, corroborando Ribeiro (2006) e Marcolin et al. (2008) que destacaram a predominância de células R nos estágios de intermuda final e de pré-muda iniciais, principalmente na região próxima ao ducto coletor. De forma semelhante ao observado no hepatopâncreas da espécie aqui estudada, Al-Mohanna e Nott (1989) apontaram a restrição das poucas células F à região proximal da zona de divisão celular no início da pré-muda, devido à diferenciação destas em células B.

Entretanto, segundo Dall et al. (1990), as fêmeas das espécies de tético fechado, como *F. brasiliensis*, copulam logo após a muda (estágio A) e, em seguida, passam pelo processo de maturação das gônadas e eventual desova. Sendo assim, infere-se que as fêmeas com gônadas desenvolvidas aqui estudadas provavelmente estariam na pós-muda final ou na intermuda, enquanto aquelas esgotadas, na intermuda final ou de pré-muda.

No presente estudo, vacúolos de diferentes tamanhos foram encontrados nas células R do hepatopâncreas, estando estes em menor número nas fêmeas com gônadas esgotadas. Isto se justifica pelo fato daquelas com gônadas desenvolvidas estarem provavelmente na pós-muda final ou intermuda, período em que a alimentação ocorre. Deste modo, as substâncias de reserva estariam sendo acumuladas em vacúolos para serem utilizadas nos períodos subsequentes, quando o animal não se alimentaria e utilizaria o material nutritivo para a

reprodução ou formação da nova carapaça rígida. Em *U. cordatus*, Marcolin et al. (2008) também observaram que as células R se apresentaram multivacuolizadas e apontaram aumento no tamanho celular entre os estágios de intermuda final (C4) e pré-muda-inicial (D0), assim como observado por Al-Mohanna e Nott (1989) em *Penaeus semisulcatus*.

Este importante papel das células R na reabsorção de substâncias de reserva é também justificado pela presença de borda em escova bem desenvolvida na região apical, responsável por aumentar a capacidade de absorção dos elementos oriundos do lúmen do túbulo hepatopancreático.

De acordo com o observado em *F. brasiliensis* e também com o descrito para *U. cordatus* (MARCOLIN et al., 2008), as células R liberam a secreção predominantemente por via apócrina, sendo possível visualizar o lúmen repleto de material proveniente destas junto àquele oriundo das células B. Entretanto, naquelas fêmeas com gônadas esgotadas também foram vistas secreções tipo holócrina, provavelmente devido à degeneração que ocorre nestas células conforme o vacúolo da célula B cresce, fato este notado por Al-Mohanna e Nott (1989).

As células F aqui estudadas, as quais apresentaram manchas basófilas no citoplasma e pequenos vacúolos na região subapical e, às vezes, na região basal, sinalizaram sua função na síntese e secreção de proteínas, assim como já apontado para outras espécies de crustáceos (AL-MOHANNA; NOTT, 1989; VOGT, 1994; JOHNSTON et al., 1998; SOUSA; PETRIELLA, 2000; SOUSA et al., 2005; RIBEIRO, 2006). Estas foram observadas distribuídas por todo o túbulo, entretanto identificadas em maior número na porção distal, corroborando o encontrado para *M. amazonicum* por Ribeiro (2006) e contariando os dados observados para algumas espécies de *Penaeus* (CACECI et al., 1988; AL-MOHANNA; NOTT, 1989).

As células B foram vistas principalmente na região média-proximal do túbulo de *F. brasiliensis* assim como o encontrado em *P. semisulcatus* por Al-Mohanna e Nott (1989) e em *M. amazonicum* por Franceschini-Vicentini et al. (2009).

Comparando-se os estágios gonadais aqui estudados, estas foram uma das células que mais sofreram alterações. Elas estão envolvidas na digestão intracelular (AL-MOHANNA et al., 1985a, AL-MOHANNA; NOTT, 1986) e sua presença em grande quantidade com a liberação de secreção indicaria intensa atividade digestória. Segundo Sousa et al. (2005), as células B possuiriam funções absorptiva e de degradação e quando maduras, ou seja, com o vacúolo central repleto de “restos”, seriam descartadas como secreção holócrina para o lúmen tubular, assim como o aqui observado nas fêmeas esgotadas. Após o período de alimentação

que ocorre no estágio de intermuda, segundo Al-Mohanna et al. (1985a), as células E entrariam em intensa atividade mitótica para renovação do epitélio, tornando-se inativas antes da ecdise (AL-MOHANNA et al., 1989).

Ribeiro (2006) e Franceschini-Vicentini et al. (2009) apontaram, ainda, que a presença de vesículas pinocíticas no citoplasma apical destas células em *M. amazonicum* indicariam a função na absorção de substâncias do lúmen, seguida da digestão intracelular e posterior secreção apócrina.

Como apontado por Icelly e Nott (1992), a célula M foi o tipo menos numeroso no hepatopâncreas da espécie aqui estudada, marcado pela ausência de microvilosidades e sem contato com o lúmen. Segundo Al-Mohanna e Nott (1989), essas células sofrem mudanças na frequência e estrutura durante o ciclo de muda, onde acumula material proteico dentro de um vacúolo durante a intermuda para seu posterior uso durante a pré e pós-muda. Isso explica a intensa basofilia observada nestas células nas fêmeas com gônadas desenvolvidas e a sua presença em maior número naquelas esgotadas.

A desorganização epitelial observada no hepatopâncreas de fêmeas esgotadas de *F. brasiliensis* foi provocada pelo desprendimento das células do epitélio, o que ocasionou em dobramentos da membrana basal e observação de um lúmen irregular. Sousa e Petriella (2007) encontraram estas mesmas características em *P. argentinus* na fase de pré-muda, apontando também a ocorrência de displasia nas células B da região proximal, não sendo, entretanto, possível a distinção dos demais tipos celulares. De maneira semelhante, Marcolin et al. (2008) observaram, no estágio inicial de pré-muda (D1) de *U. cordatus*, desorganização nos túbulos hepatopancreáticos, presença de hemócitos nos espaços intertubulares, dobras no tecido de sustentação e redução na frequência de células B e F, sinalizando estresse nutricional e sugeriram que neste estágio os animais deixariam de se alimentar.

Assim como sugerido anteriormente, é mais provável que as fêmeas esgotadas aqui estudadas encontrar-se-iam em fase de intermuda final e início da pré-muda, portanto, a morfologia encontrada pode estar relacionada tanto com o início da privação de alimento, como com a preparação para a formação da nova carapaça e novos ovócitos. Ainda neste estágio, a liberação holócrina de secreção pelas células hepatopancreáticas levaria à renovação celular que ocorre no fim do ciclo digestivo (HOPKIN; NOTT, 1980), pois, tanto esse evento como a eliminação de células senescentes e/ou alteradas não é um processo contínuo.

Segundo Sousa e Petriella (2001), o acúmulo de substâncias orgânicas neste órgão serve como sinalizador da regulação neuroendócrina da muda. Desta forma, pelas



características hepatopancreáticas aqui observadas, pelas descrições encontradas na literatura para outras espécies e por meio dos estágios gonadais previamente conhecidos, pôde-se estimar as fases de muda nas quais as fêmeas de *F. brasiliensis* se encontravam. Entretanto, é sabido que o aumento da demanda energética na reprodução e muda é programado fisiologicamente e pode diferir entre as espécies e/ou população (MARCOLIN et al., 2008), refletindo nas flutuações entre o órgão que estoca e aquele que utiliza a energia e varia tanto com o tempo como com o habitat do animal (KYOMO, 1988).

### AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao Prof. Dr. Flavio Henrique Caetano por disponibilizar o Laboratório de Microscopia Eletrônica para que parte deste estudo fosse desenvolvida. Também, gostaríamos de agradecer o auxílio técnico de Monika Iamonte, Antonio Teruyoshi Yabuki, Gerson Mello Souza, Izabela Braggião Calligaris e Andrea Mendes Araújo.

### REFERÊNCIAS

- ADIYODI, R. G.; ADIYODI, K. G. 1972. Hepatopancreas of *Paratelphusa hydrodromous* (Herbst): histophysiology and the pattern of proteins in relation to reproduction and moult. **Biological Bulletin**, v. 142, p. 359-369.
- AL-MOHANNA; S. Y.; NOTT, J. A. B-cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 66, p. 403-414, 1986.
- AL-MOHANNA. S. Y.; NOTT, J. A. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. **Marine Biology**, v.101, p. 503-544, 1989.
- AL-MOHANNA. S. Y.; NOTT, J. A.; LANE, D. J. W. Mitotic E and secretory F-cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 65, p. 901-910, 1985a.
- BAUER, R. T.; LIN, J. Temporal patterns of reproduction and recruitment in populations of the penaeid shrimps *Trachypenaeus similis* (Smith) and *T. constrictus* (Stimpson) (Crustacea: Decapoda) from the north-central Gulf of Mexico. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 182, p. 205-222, 1994.

- BARNES, P. C.; OLIVE, R. J. W. **Os Invertebrados: uma nova síntese**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2<sup>a</sup> ed., 1995. 526p.
- BRANCO, J. O. Biologia e pesca do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (Crustacea, Penaeidae) na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n.4, p. 1050-1062, 2005.
- CACECI, T.; NECK, K. F.; LEWIS, D. H.; SIS, R. F. Ultrastructure of the hepatopancreas of the pacific white shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 68, p. 323-337, 1988.
- CECCALDI, H.J. Anatomy and physiology of digestive tract of Crustaceans decapods reared in aquaculture. **Advances in Tropical Aquaculture**, v. 9, p. 243-259, 1989.
- CHAVEZ-CROOKER, P.; POZO, P.; CASTRO, H.; DICE, M. S.; BOUTER, I.; TANGUY, A.; MORAGA, D.; AHEARN, G. A. Cellular localization of calcium, heavy metals, and metalotioneína in lobster (*Homarus americanus*) hepatopancreas. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 136, p. 213-224, 2003.
- COSTA, R. C.; FRANSOZO, A.; SCHMIDT, G. A.; FREIRE, F. A. M. 2003. **Chave ilustrada para identificação dos camarões Dendrobranchiata do litoral norte do Estado de São Paulo**. Biota Neotropical, v. 3, n. 1, p. 1-12. Disponível em: <http://www.biotaneotropica.org.br/v3n1/pt/abstract?article+BN01503012003>. Acesso em 07 de fevereiro de 2011.
- CUARTAS, E. I.; DIAZ, A. C.; PETRIELLA, A. M. Modificaciones del hepatopancreas del langostino *Pleoticus muelleri* (Crustacea, Penaeoidea) por efecto de la salinidade. **Biociencias**, v. 11, n. 1, p. 53-59, 2003.
- DALL, W.; HILL, B. J.; ROTHLSBERG, P. C.; STAPLES, D. J. The biology of the Penaeidae; In: BLAXTER, J. H. S.; SOUTHWARD, A. J. (Ed). **Advances in Marine Biology**, San Diego: Academic Press, 1990. v. 27, 489p.
- D'INCAO, F. Subordem Dendrobranchiata (camarões marinhos), p. 271-299. In: Buckup, L.; Bond-Buckup, G. (Ed.) **Os Crustáceos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade, 1999. 514 p.
- ESTEVE, M.; HERRERA, F. Hepatopancreatic alterations in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1939) (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) experimentally infected with a *Vibrio alginolyticus* Strain. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 76, p. 1-5, 2000.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2002. The living marine resources of the Western Central Atlantic. In: **FAO, Species Identification Guide for Fisheries Purposes and American Society of Ictiologist and Herpetologist**. CARPENTER, K. E. (ed.) Special Publication. n. 5, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- FRANCESCHINI-VICENTINI; I. B.; RIBEIRO, K.; PAPA, L. P.; MARQUES-JUNIOR, J.; VICENTINI, C. A.; VALENTI, P. M. C. M. Histoarchitectural features of the hepatopancreas of Amazon River Prawn *Macrobrachium amazonicum*. **International Journal of Morphology**, v. 27, n.1, p.121-128, 2009.

GIBSON, R.; BARKER, P. L. The decapod hepatopancreas. **Oceanographic Marine Biology Annual Review**, v. 17, p. 285-346, 1979.

HOPKIN, S. P.; NOTT, J. A. Studies on the digestive cycle of the shore crab *Carcinus maenas* (L.) with special reference to the B cells in the hepatopancreas. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 60, p. 891-907, 1980.

HRYNIEWIECKA-ZSYFTER, Z.; BABULA, A. Ultrastructural changes in hepatopancreas cells of *Saduria entomon* (Linnaeus, 1785) (Isopoda, Valvifera) from the Baltic infected with *Cryptococco laurentii* (Kuferath). **Crustaceana**, v. 7, p. 822-830, 1997.

IBAMA (Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos recursos naturais renováveis). 2004. **Estatística da pesca 2003, Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação**. Ministério do Meio Ambiente. DIFAP/CGREP, 137 p.

ICELY, J. D.; NOTT, J. A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. In: HARRISON, F. W.; HUMES, A. G. (ed.), **Microscopic Anatomy of Invertebrates**, v.10, New York: Wiley-Liss, 1992. p. 147-201.

IWAI, M. **Desenvolvimento larval e pós-larval de *Penaeus (Melicertus) paulensis* Pérez-Farfante, 1967 (Crustacea: Decapoda) e o ciclo de vida dos camarões do gênero *Penaeus* da região centro-sul do Brasil**. 1978. 137p. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 1978.

JOHNSTON, D. J.; ALEXANDER, C. G.; YELLOWLEES, D. Epithelial cytology and function in the digestive gland of *Thenus orientalis* (Decapoda: Scyllaridae). **Journal of Crustacean Biology**, v.18, n. 2, p. 271-278, 1998.

KAMESWARAMMA, A. L.; SHYAMASUNDARI, K. E; HANUMANTHA RAO, K. Histological and histochemical changes of the hepatopancreas in relation to moult stages of the mole crab *Emerita asiatica* (Milne Edwards) (Crustacea: Anomura). **Rivista di Hidrobiologia**, v. 29, n. 3, p. 781-796, 1990.

KYOMO, J. Analysis of the relationship between gonads and hepatopancreas in males of the crab *Sesarma intermedia*, with reference to resource and reproduction. **Marine Biology**, v. 97, p. 87-93, 1988.

LAWRENCE, J. M. Patterns of lipid storage in post-metamorphic marine invertebrates. **American Zoologist**, v. 16, p.747-762, 1976.

LOPES, M.; COSTA, R. C.; FRANSOZO, A.; CASTILHO, A. L.; SIMÕES, S. M. 2007. **Comparação diuturna na abundância e no tamanho do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea, Penaeidae) no litoral norte do Estado de São Paulo**. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu – MG.

LOVETT, D. L.; FELDER, D. L. Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). **Journal of Morphology**, v. 201, p. 253-271, 1989.

MARCOLIN, C. R.; CARQUEIJA, C. R. G.; TOZETTO, S. O.; OLIVEIRA, D. C.; CÔRREA, A. M. A. Alterações morfológicas do hepatopâncreas de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) em relação aos estádios de intermuda e pré-muda inicial. **Revista Brasileira de Zootecias**, v.10, n. 2, p. 97-104, 2008.

PAPA, L.P. **Caracterização estrutural do sistema reprodutor masculino e do hepatopâncreas dos diferentes morfotipos de *Macrobrachium amazonicum***. 2007. 94f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil, 2007.

PAPATHANASSIOU, E.; KING, P. E. Effects of starvation on the fine structure of the hepatopâncreas in the common prawn *Palaemon serratus* (Pennant). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.77, p.243-250, 1984.

PETERLE, G. T. **Aspectos morfológicos e funcionais do hepatopâncreas de camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (HELLER, 1862) (Crustacea: Penaeoidea) do litoral sul do Espírito Santo**. 2011. 51p. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil, 2011.

PILLAI, R. S. Studies on the shrimp *Caridina laevis* (Heller). 1. The digestive system. 1960. In: HARRISON, F. W.; HUMES, A. G. (Ed.), **Microscopic Anatomy of Invertebrates**, v.10. Decapoda Crustacea. New York: Wiley-Liss, 1992. p. 147-201.

PINHO, G. L.L.; MOURA DA ROSA, C.; YUNES, J. S.; LUQUET, C.M.; BIANCHINI, A.; MONSERRAT, J.M. Toxic effects of microcystins in the hepatopâncreas of the estuarine crab *Chasmagnathus granulatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. C 135, p. 459-468, 2003.

RAMADEVI, K. R. L. S.; SHYAMASUNDARI, K.; HANUMANATHA RAO, K. Observation on the hepatopâncreas of *Ocypoda platytarsis* (Milne-Edwards) (Crustacea, Brachyura). **Bulletin of Zoology**, v. 57, p. 261-265, 1990.

RIBEIRO, K. **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal**. 2006. 98f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2006.

SCHEMY, R. A. **Aspectos da biologia de *Callinectes danae* (Smith, 1869) da região de Santos, São Paulo**. 1980, 84p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 1980.

SOUSA, L. G.; PETRIELLA, A. M. Histology of the hepatopâncreas of the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Caridea). **Biocell**, v. 24, p.189-195, 2000.

SOUSA, L. G.; PETRIELLA, A. M. Changes in hepatopâncreas histology of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Caridea) during moult. **Biocell**, v. 25, p. 275-281, 2001.

SOUSA, L. G.; PETRIELLA, A. M. Functional morphology of the hepatopâncreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Decapoda): influence of environmental pollution. **Revista de Biología Tropical**, v. 55, suppl.1, p. 79-86, 2007.

SOUSA, L. G.; CUARTAS, E. I.; PETRIELLA, A. M. Fine structural analysis of the epithelial cells in the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Decapoda, Caridea) in intermoult. **Biocell**, v. 29, n. 1, p. 25-31, 2005.

STORCH, V.; WELSCH, U. Elektronenmikroskopische und enzymhistochemische Untersuchungen der Mitteldarmdrüse der landlebenden Decapoden *Caenobita rugosus* und *Ocypode ceratophthalma*. **Zoologische Jahrbuecher Abteilung fuer Anatomie und Ontogenie der Tiere**, v. 97, p. 25-39, 1977.

SZYFTER, Z. The correlation of moulting and changes occurring in the hepatopancreas of *Porcellio scaber* Latr. (Crustacea, Isopoda). **Bulletin de la Société des amis des sciences et des lettres de Pozna**, v. 7D, p. 95-114, 1966.

TRAVIS, D. F. The moulting cycle of the spiny lobster, *Panulirus argus* Latreille. II. Pre-ecdysial histological and histochemical changes in the hepatopancreas and integumental tissues. **Biological Bulletin**, v. 108, p. 88-112, 1955.

TRAVIS, D. F. The moulting cycle of the spiny lobster, *Panulirus argus* Latreille. IV. Post-ecdysial histological and histochemical changes in the hepatopancreas and integumental tissues. **Biological Bulletin**, v. 113, p. 451-479, 1957.

VALENTIM-NETO, P. A. **Possíveis causas da mortalidade do caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) no estuário do Rio Jaguaribe- Ceará**. 2004. 75p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.

VOGT, G. Life-cycle and functional cytology of the hepatopancreatic cells of *Astacus astacus* (Crustacea, Decapoda). **Zoomorphology**, v. 114, p. 83-101, 1994.

VOGT, G.; STORCH, V.; QUINTIO, E. T.; PASCUAL, F. P. Midgut gland as a monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda). **Aquaculture**, v. 48, p. 1-12, 1985.

VOGT, G.; STOCKER, W.; ZWILLING, R. Biosynthesis of *Astacus* proteases, a digestive enzyme from crayfish. **Histochemistry**, v. 91, p. 373-381, 1989.

ZILLI, L.; SCHIAVONE, R.; SCORDELLA, G.; ZONNO, V.; VERRI, T.; STORELLI, C.; VILELLA, S. Changes in cell type composition and enzymatic activities in the hepatopancreas of *Marsupenaeus japonicus* during the moulting cycle. **Journal of Comparative Physiology**, v. B 173, p. 355-363, 2003.

## *Capítulo 2*

---

## CAPÍTULO 2

**Caracterização histoquímica do hepatopâncreas de fêmeas adultas do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) coletadas no litoral sul do Espírito Santo.**

**Histochemical characterization of the hepatopancreas of the pink shrimps *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) adult females collected in southern coast of Espírito Santo.**

**AUTORES:** Erika Takagi Nunes<sup>1\*</sup>, Adriane Araújo Braga<sup>1</sup>, Maria Izabel Camargo-Mathias<sup>2</sup>

<sup>1</sup>. Departamento de Medicina Veterinária- Centro de Ciências Agrárias- Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/nº, Alegre/ES, Brasil, 29500-000.

<sup>2</sup>. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Av. 24A, 1515, Bela Vista, Rio Claro/SP, Brasil, 13506-765.



## RESUMO

O objetivo do presente estudo foi obter informação sobre a histoquímica das células do hepatopâncreas de fêmeas do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis*. Para tal, fêmeas adultas com gônadas desenvolvidas e esgotadas de *F. brasiliensis* foram coletadas em Guarapari, Espírito Santo, Brasil, sendo a glândula digestiva retirada e submetida às técnicas: PAS/ azul de Alcian, azul de bromofenol, von Kossa e Baker, para detecção de polissacarídeos, proteínas, cálcio e lipídios, respectivamente. Em ambos os estágios estudados, os glicoconjugados ácidos foram encontrados com frequência, principalmente, no interior de vacúolos nas células R, enquanto que os polissacarídeos neutros, no interior das células B e próximo às microvilosidades. Em fêmeas com gônadas esgotadas este elemento também foi observado no espaço intertubular e no lúmen tubular. As células F e M foram intensamente marcadas pela presença de grande quantidade de proteínas, além de ter sido observada forte positividade para o corante azul de bromofenol nas células R e no interior dos vacúolos das células B. O cálcio foi marcado nas células F e M e pouco marcado ou ausente nas células R e B, sendo esta marcação menos intensa nas fêmeas com gônadas esgotadas. Quando submetido à técnica de Baker, o epitélio hepatopancreático mostrou células F com forte positividade para lipídio, bem como foi observada intensa marcação ao redor dos vacúolos das células B, enquanto as células R reagiram fracamente ao teste. As células E não reagiram a nenhum dos testes aplicados. Concluiu-se que apesar de haver diferença histoquímica entre as células que constituem os túbulos hepatopancreáticos de fêmeas *F. brasiliensis*, observou-se marcação semelhante para os testes aplicados nos dois estágios gonadais aqui estudados. Isso devido ao acúmulo constante de cálcio, lipídios, proteínas e carboidratos neste órgão ser importante para o início do desenvolvimento dos ovócitos e, também, para participação nas demais atividades metabólicas, estando, possivelmente, relacionado com o ciclo da alimentação e/ou de muda.

**KEYWORDS:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, hepatopâncreas, glândula do intestino médio, histoquímica.



## ABSTRACT

The objective of the present study was to provide information about the histochemistry of the hepatopancreas cells of the pink-shrimp *Farfantepenaeus brasiliensis* females. For this, the *F. brasiliensis* females with developed and exhausted gonad were collected in Guarapari, Espírito Santo, Brazil, being the digestive gland removed and submitted to the techniques: PAS/Alcian blue, bromophenol blue, von Kossa and Baker, for polysaccharide, protein, calcium and lipid detection, respectively. At both studied stages, acid glycoconjugates were frequently found inside vacuoles in R cells while neutral polysaccharides inside B cells and near to the microvilli. In females with exhausted gonads this element was also seen in intertubular space and inside lumen of the tubule. The F cell and M cell were the most marked by the presence of large amount of proteins besides the high positivity to bromophenol blue stain observed in R and inside the vacuoles of B cells. The calcium was marked in F and M cell and slightly marked or absent in R and B cells, being the marking less intense in females with exhausted gonad. When submitted to Baker technique, the hepatopancreatic epithelium showed F cells with strong positivity for lipid as well as observed strong marking around of vacuoles of B cells while R cell react weakly to the test. The E cells did not react to any of the applied tests. It was concluded that although there is histochemical difference among the cells that constitute the hepatopancreatic tubules of *F. brasiliensis* females, it was observed similar marking for the applied tests in both gonadal stages studied here. This is due to the constant accumulation of calcium, lipids, proteins and carbohydrates inside this organ be important to early development of oocytes and also to participate in other metabolic activities being possibly related to the feeding and/or moult cycles.

**KEYWORDS:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, hepatopancreas, midgut gland, histochemistry.

## INTRODUÇÃO

O hepatopâncreas é um órgão que se destaca no intestino médio tanto por seu volume como por sua complexidade (ICELY; NOTT, 1992), representando de 2 a 6% do peso corpóreo total (CECCALDI, 1989), sendo então considerado a maior glândula digestória dos crustáceos. Ele desempenha função importante na assimilação de nutrientes e representa a provisão de reserva de energia que é utilizada para o crescimento e o metabolismo dos animais (DALL; MORIATY, 1983). Está localizado na cavidade cefalotorácica e também é denominado de fígado, pâncreas, glândula do intestino médio, glândula gástrica, glândula digestória, cecos anteriores, divertículo digestório, órgão digestivo, glândula intestinal média e hepatopâncreas (GIBSON; BARKER, 1979).

O hepatopâncreas de decápodos é constituído por uma série de túbulos que terminam em fundo cego e, de acordo com Jacobs (1928) e Hirsch e Jacobs (1928), têm sido identificados quatro tipos de células no epitélio de revestimento deste órgão: E (embrionária), R (reabsortiva), F (fibrilar) e B (vesicular), sendo a localização destas, variável ao longo do túbulo (ICELY; NOTT, 1992). Alguns autores apontam ainda, a existência da célula M (basal) (RIBEIRO, 2006; PETERLE, 2011).

O papel específico dos diferentes tipos celulares tem sido inferido a partir da morfologia das células e da localização histoquímica das enzimas digestivas e assimilação de nutrientes (HIRSCH; JACOBS, 1928; STORCH; WELSCH, 1977; BARKER; GIBSON, 1978).

Desta forma, uma vez estabelecido o balanço nutricional do crustáceo, as suas funções fisiológicas devem representar a assimilação de nutrientes e seu uso como produtor da energia mecânica (locomoção), reprodução (especialmente na biossíntese dos tecidos ovarianos ou testículos), crescimento (energia usada para muda, síntese de tecido muscular, produção de exúvia), síntese de membrana peritrófica, regulação osmótica e excreção (CECCALDI, 1989).

Sendo assim, o estudo da morfologia microscópica evidenciará os reflexos destas mudanças metabólicas desencadeadas pela alimentação, principalmente quando se trata do hepatopâncreas, órgão que responde às diversas demandas acima descritas como também já apontado por outros autores (VOGT et al., 1985; ICELY; NOTT, 1992; JOHNSTON et al., 1998).

Buscando um melhor conhecimento a respeito da morfologia, constituição e função dos diferentes tipos de células que constituem o epitélio da glândula do intestino médio de fêmeas de *Farfantepenaeus brasiliensis*, este trabalho descreveu, histoquimicamente, cada

tipo celular procurando verificar sua relação com o desenvolvimento gonadal a fim de colaborar com a compreensão da fisiologia deste camarão e, conseqüentemente, auxiliar no aprimoramento da aquicultura de crustáceos.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Camarões**

Camarões-rosa da espécie *F. brasiliensis* foram coletados em Guarapari, litoral sul do estado do Espírito Santo, Brasil, (S 20°41'259') sendo separadas cerca de 15 fêmeas com gônada em estágio esgotado (ES) e 15 com gônada desenvolvida (DE).

A determinação sexual foi estabelecida de acordo com os padrões descritos por Bauer e Lin (1994).

### **Técnicas histoquímicas**

Para a análise histoquímica, fragmentos do hepatopâncreas foram fixados, durante 24 horas, em solução específica para cada técnica: solução de paraformaldeído 4% para detecção de proteínas e cálcio, formol cálcio para detecção de lipídios e Bouin aquoso para detecção de polissacarídeos. Após a fixação, o material foi desidratado em banhos em série crescente de álcool etílico 70, 80, 90 e 95%, com duração de 15 minutos cada e então, foi transferido para resina de embebição. A inclusão foi realizada em resina glicol metacrilato e os blocos, após polimerização a 37°C, foram seccionados com navalhas de vidro em micrótomo Leica RM. As secções de 5µm de espessura foram coletadas, colocadas em lâminas de vidro e submetidas às técnicas de coloração abaixo descritas:

### **Técnica Simultânea do Ácido Periódico-Schiff (PAS) e do Azul de Alcian para detecção de polissacarídeos ácidos e neutros, de acordo com Junqueira e Junqueira (1983):**

As lâminas foram coradas com azul de Alcian, pH 2.5, durante 30 minutos e lavadas em água destilada. Posteriormente, foram banhadas em ácido periódico 1% por 5 minutos e

lavadas em água. A seguir, foram colocadas em reagente de Schiff por 30 minutos, no escuro, lavadas em água sulfurosa por 1 minuto e, então, em água corrente por 10 minutos. Estas lâminas permaneceram na hematoxilina por dois minutos e foram novamente lavadas em água para a reação. Depois de secas, foram diafanizadas em xilol e montadas em bálsamo do Canadá.

**Azul de Bromofenol para detecção de proteínas, de acordo com Junqueira e Junqueira (1983):**

As lâminas foram coradas pelo azul de Bromofenol por 2 horas, à temperatura ambiente. Posteriormente, foram lavadas em ácido acético 0.5% por 5 minutos, seguido de banho em água corrente por 15 minutos. A seguir, foram passadas rapidamente em solução de ácido butílico, diafanizadas em xilol e montadas em bálsamo do Canadá.

**Von Kossa para detecção de cálcio, de acordo com Junqueira e Junqueira (1983):**

Após um minuto em água destilada, as laminas foram mantidas em nitrato de prata por 20 minutos, no escuro. Posteriormente, foram lavadas em água corrente, deixadas em revelador D72 por dois minutos e, a seguir, em solução tiosulfato por cinco minutos. A contra coloração deu-se em hematoxilina por seis minutos. Depois de lavadas em água corrente, as lâminas foram secas e montadas em bálsamo do Canadá.

**Técnica de Baker para detecção de lipídio, de acordo com Baker (1946):**

As lâminas foram tratadas com bicromato de cálcio por 18 horas, lavadas várias vezes em água destilada e mantidas em hemateína ácida por cinco horas, à temperatura ambiente. A diferenciação foi realizada em mistura de Weigert 1%. Depois de lavadas em água destilada, as laminas foram montadas em gelatina glicerinada.

A seguir, todo o material obtido foi observado e fotografado em fotomicroscópio Motic BA300 do Laboratório de Histologia do Departamento de Biologia do Instituto de Biociências da UNESP – Rio Claro, SP, Brasil.

## RESULTADOS

### Técnica do PAS/Azul de Alcian

Os hepatopâncreas de *F. brasiliensis* provenientes de fêmeas com gônadas DE, apresentam glicoconjugados ácidos principalmente concentrados no interior dos vacúolos das células R (reabsortivas), localizadas tanto na região média-proximal quanto na distal dos túbulos (Fig. 1A, B).

Marcação intensa para polissacarídeos neutros é encontrada no interior do grande vacúolo apical presente nas células B (vesiculares) localizadas principalmente na região média-proximal (Fig. 1A-C). À medida que se avança para a região proximal, as células B diminuem a quantidade destes, provavelmente devido à liberação do material vacuolar para o lúmen do túbulo. Sendo assim, na região luminal pode ser vista grande quantidade de secreção com marcações para polissacarídeos (Fig. 1C). O citoplasma basal destas células, por sua vez, mostra-se moderadamente positivo ao teste.

Reação positiva moderada também é vista nas microvilosidades de todas as células que atingem o lúmen (Fig. 1B).

As células E (embrionárias), F (fibrilares) e M (basais) do epitélio hepatopancreático apresentam o citoplasma negativo ao teste (Fig. 1A-B).

O hepatopâncreas proveniente daquelas fêmeas com gônadas ES mostra, na região distal: secreção granulosa no lúmen, células R com vacúolos positivos para polissacarídeos ácidos, células B moderadamente positivas para polissacarídeos neutros, sendo aquelas em início de diferenciação e as células F, M e E, negativas ao teste. Próximo as microvilosidades há marcação positiva (Fig. 1D).

Já na região média-proximal destas mesmas fêmeas são observados os grandes vacúolos na porção apical das células B repletos de glicoconjugados neutros (Fig. 1E), além da presença de grande quantidade de secreção fortemente positiva para PAS no lúmen, junto aos polissacarídeos ácidos provenientes dos vacúolos da célula R (Fig. 1E, F).

No espaço intertubular é encontrada secreção granulosa fracamente positiva para polissacarídeos neutros além de pouco daqueles ácidos (Fig. 1D-F).

### **Técnica do Azul de Bromofenol**

Através desta técnica, na região distal, as células F dos hepatopâncreas provenientes de fêmeas com gônadas DE estão positivas, enquanto que as células B e R reagem moderadamente e as E são negativas ao teste (Fig. 2A-C).

Na região média-proximal do túbulo, as células M mostram citoplasma fortemente corado; as células F apresentam forte marcação para proteínas assim como a porção citoplasmática apical e o conteúdo do grande vacúolo das células B (Fig. 2B).

Também é observada a presença de proteínas no espaço intertubular e na região de borda em escova (Fig. 2 A, B).

Já nas fêmeas com gônadas ES, as células F apresentam reação moderada, enquanto as M são fortemente positivas; algumas células B apresentam conteúdo vacuolar com média e outros com forte marcação para proteína, sendo o citoplasma basal moderadamente positivo ao teste; nas células R, marcação proteica moderada é encontrada principalmente na região basal ou perinuclear (Fig. 2D-F).

Em ambos os estágios gonadais estudados as células F e M do hepatopâncreas são as mais marcadas pelo teste aplicado (Fig. 2).

### **Técnica de Von Kossa**

No hepatopâncreas de fêmeas DE, o citoplasma das células M reage fortemente ao teste, principalmente naquelas da região média-proximal (Fig. 3 B).

As células R e F, localizadas principalmente na região média, têm citoplasma com moderada marcação para cálcio, enquanto aquelas da região distal são fracamente positivas ao teste. Já as células B, tem citoplasma basal pouco positivo, assim como o conteúdo do grande vacúolo, enquanto que as células E mostram-se negativas ao teste (Fig. 3A, B).

Os hepatopâncreas provenientes de fêmeas ES mostram-se semelhantes àqueles das fêmeas DE, sendo o conteúdo vacuolar das células B negativo, as R e F negativas ou fracamente positivas e as M, predominantemente, marcadas pelo teste (Fig. 3C, D).

### **Técnica de Baker**

Nos hepatopâncreas das fêmeas tanto DE como ES foram observados resultados semelhantes quanto à constituição lipídica (Fig. 3C, F).

O citoplasma das células B é visto marcado, principalmente, ao redor do grande vacúolo, sendo o material contido no interior desse, negativo. As células F apresentam-se fortemente marcadas enquanto apenas uma leve marcação para lipídio é observada no citoplasma das células R e M (Fig. 3C, F).

A tabela 1 apresenta a intensidade das reações das células hepatopancreáticas das fêmeas adultas de *F. brasiliensis*, quando submetidas aos testes histoquímicos.

**Tabela 1.** Reação das células hepatopancreáticas de fêmeas adultas de *Farfantepenaeus brasiliensis* aos testes histoquímicos.

Estágio gonadal	Célula	PAS / Azul de Alcian	Azul de bromofenol	Von Kossa	Baker
Gônada desenvolvida (DE)	E	-	-	-	-
	R	+ (região distal) ++ (região média-proximal)	++	+ / ++	++
	F	-	++ / +++	++	+++
	B	+++ conteúdo vacuolar	++	+	++
	M	-	+++	+++	+++
	Lúmen	+++	-	-	++
	Borda em escova	+++	+++	++	++
	Espaço intertubular	++	+ / ++	-	+++
Gônada esgotada (ES)	E	-	-	-	-
	R	++ (região distal)	++ (região basal e perinuclear)	- / +	+
	F	-	++	+	+++
	B	+++ conteúdo vacuolar	+++	-	++
	M	-	++ / +++	++ / +++	++
	Lúmen	+++	++	- / +	+
	Espaço intertubular	++	-	-	++

- não reagiu                      + fraca reação                      ++ moderada reação                      +++ intensa reação

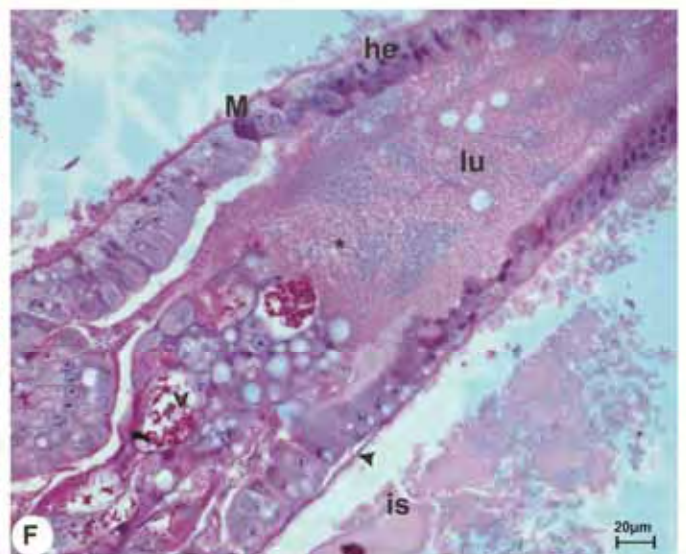
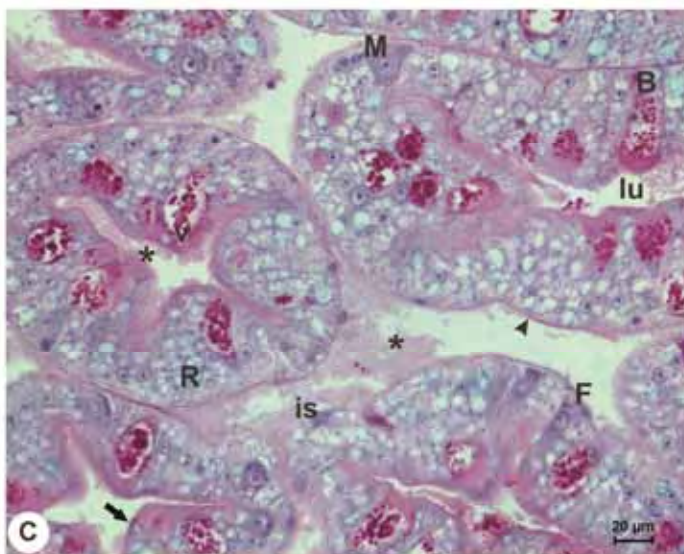
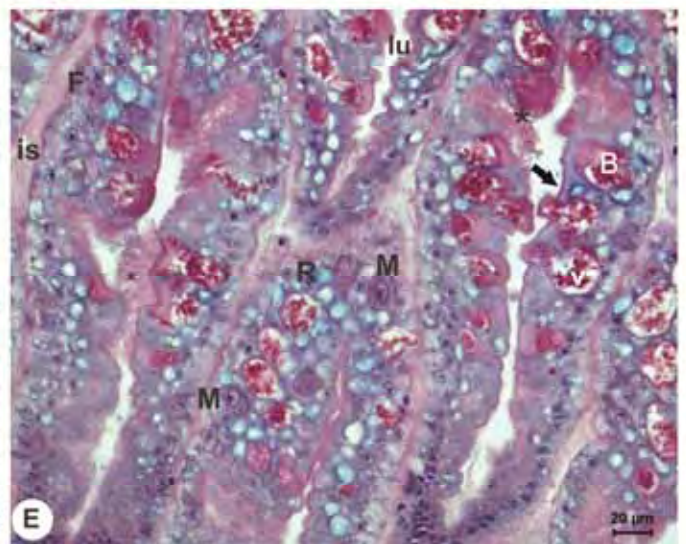
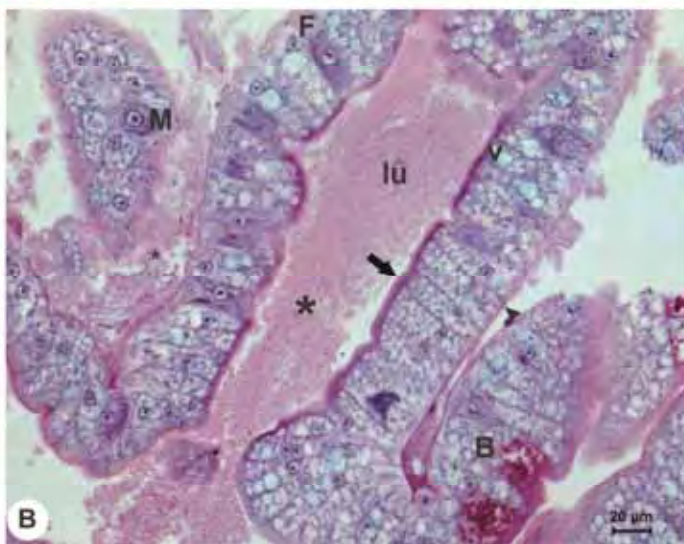
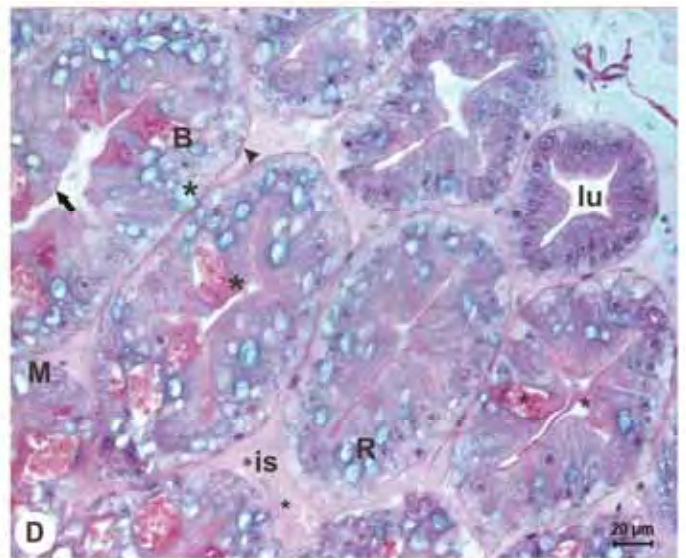
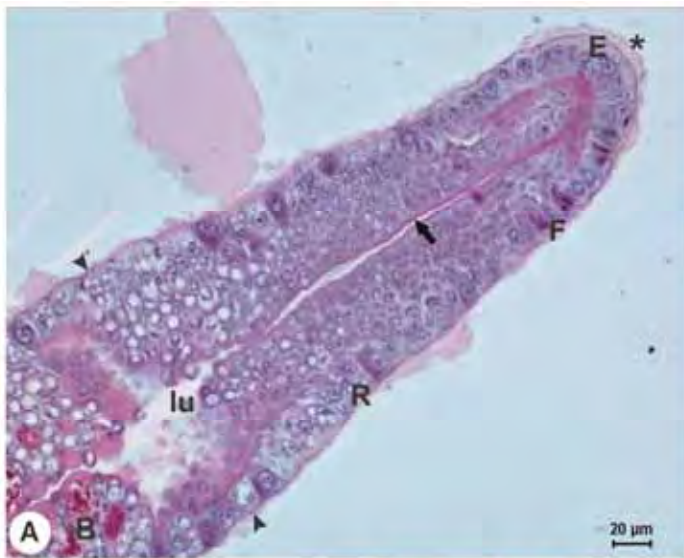


# FIGURAS

---

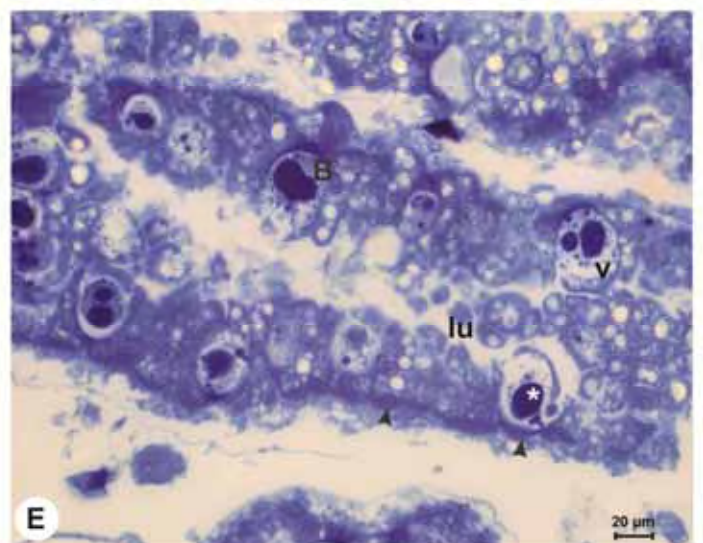
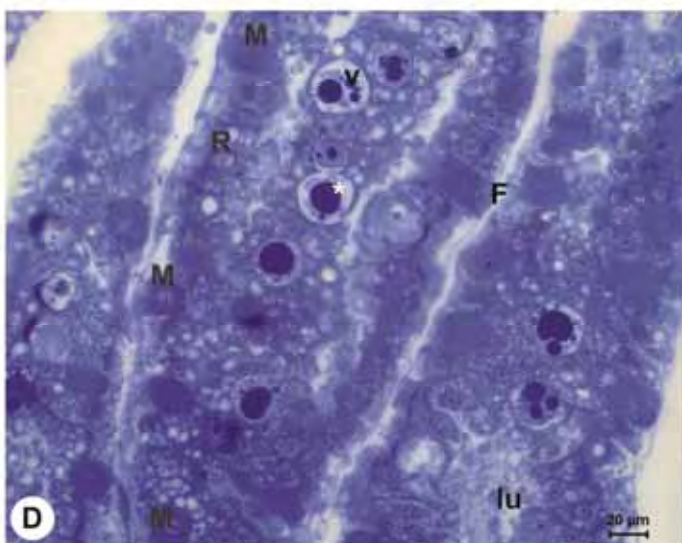
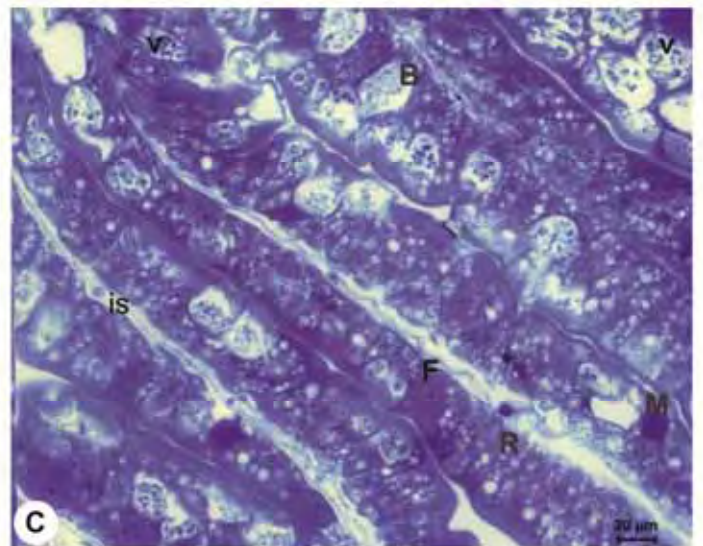
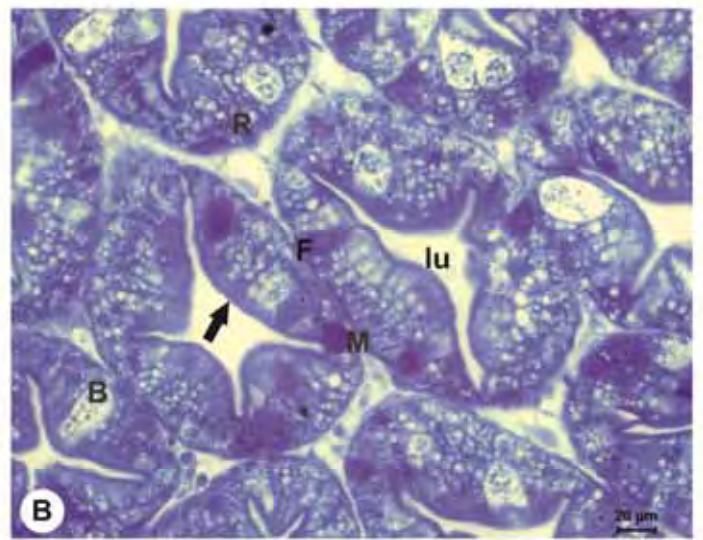
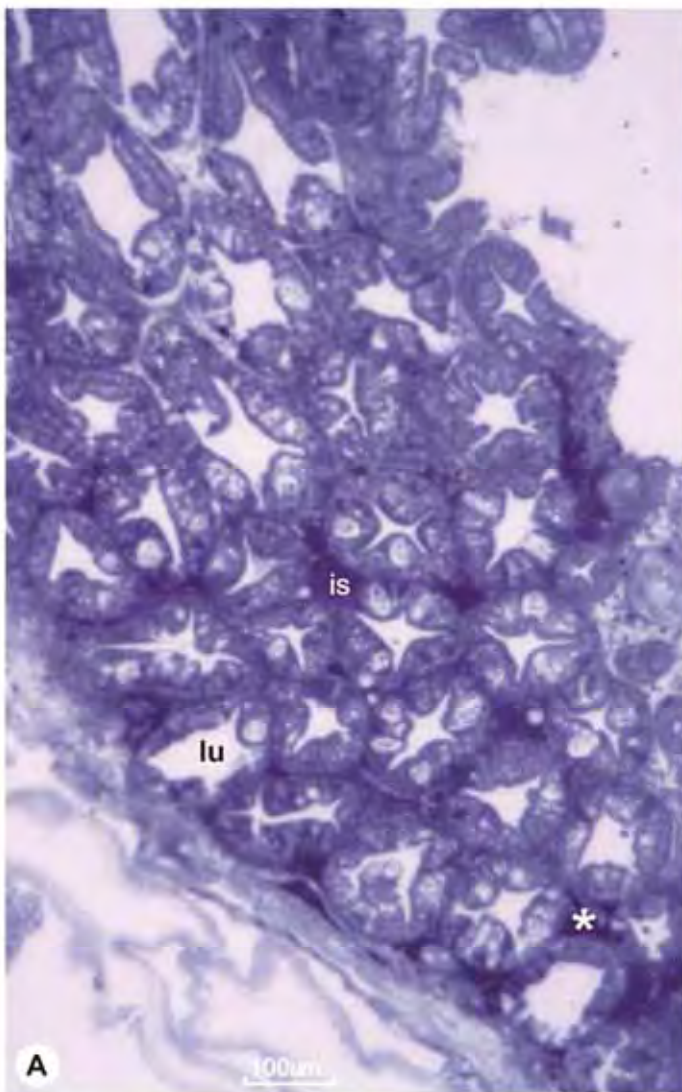
---

**Figura 1:** Secções histológicas do hepatopâncreas de *Farfantepenaeus brasiliensis* submetidas ao teste histoquímico PAS - Azul de Alcian. **A-C.** Túbulos hepatopancreáticos de fêmeas com gônadas desenvolvidas. Em A, observe a porção distal do túbulo com as células E (**E**), R (**R**) e F (**F**); em B, a região media-distal com polissacarídeo (\*) principalmente na borda em escova (**seta**), no interior do lúmen (**lu**) e na membrana basal (**ponta da seta**); em C, note a presença de polissacarídeo ácido na célula R (**R**) e de polissacarídeo neutro no vacúolo apical (**v**) da célula B (**B**). **D-F.** Túbulos hepatopancreáticos de fêmeas com gônadas esgotadas. Note em D a predominância de polissacarídeo ácido no interior de vacúolos das células R; em E, é visto material polissacarídico neutro do vacúolo apical da célula; e em F, o epitélio hepatopancreático (**he**) mais baixo devido a liberação de material das células R e B. **M**= célula M, **is**= espaço intertubular.



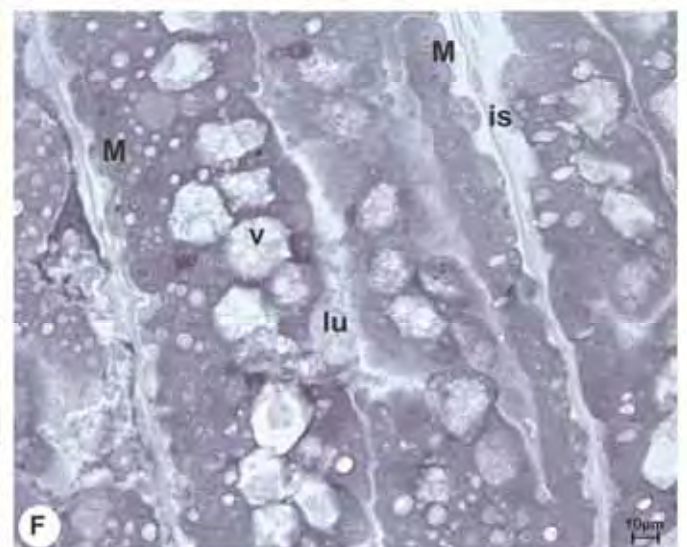
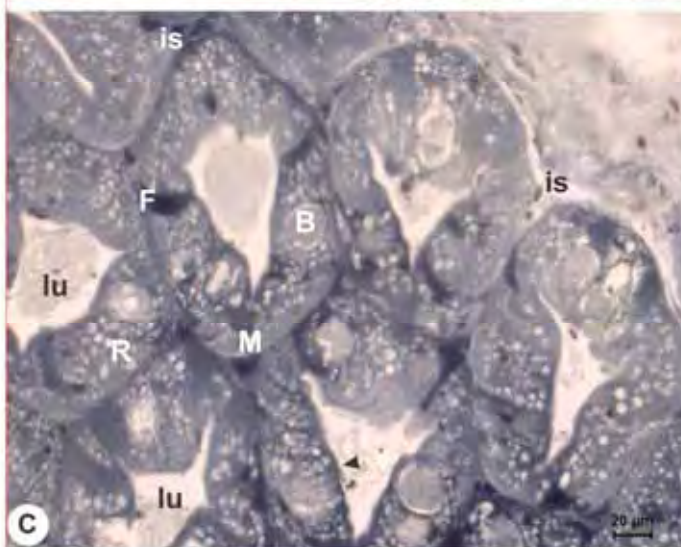
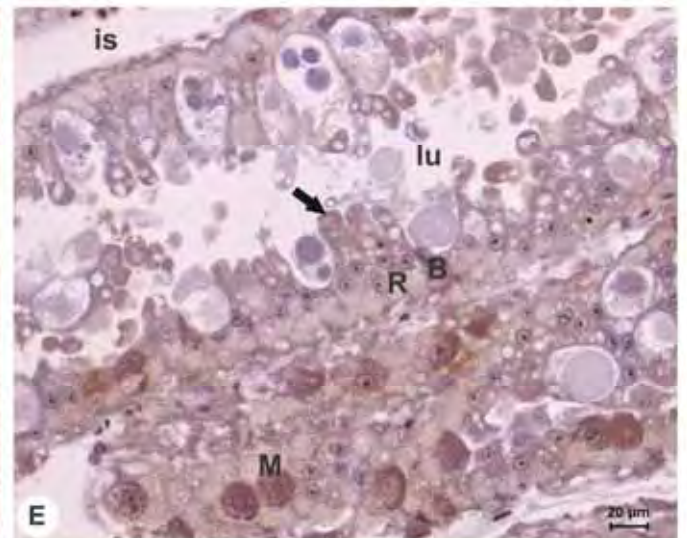
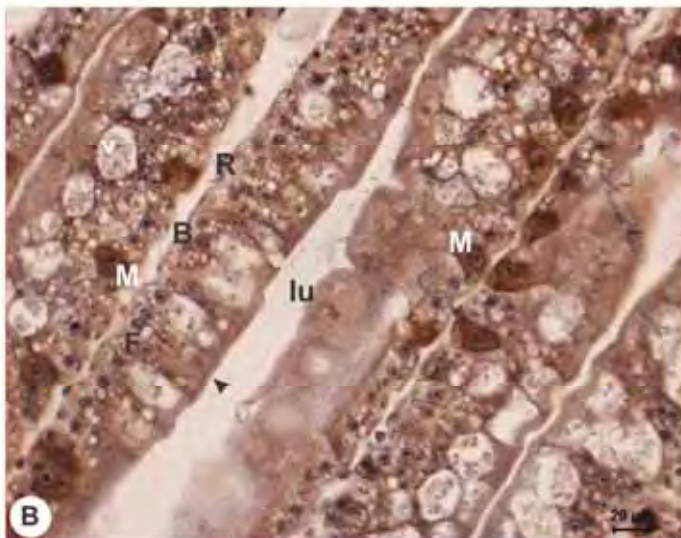
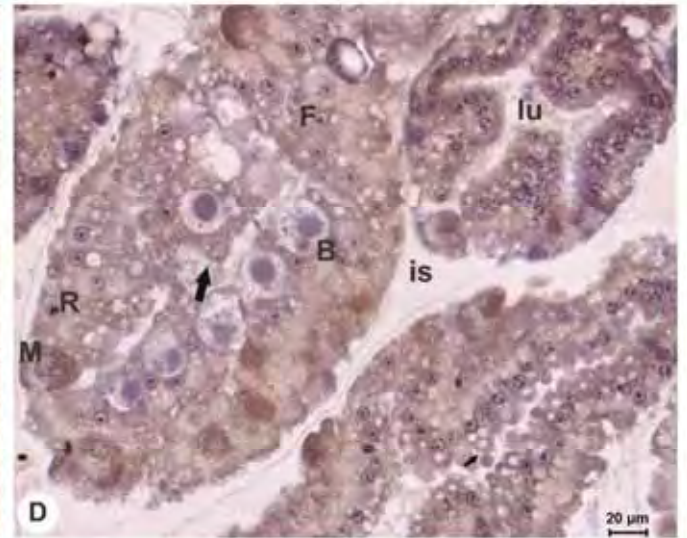
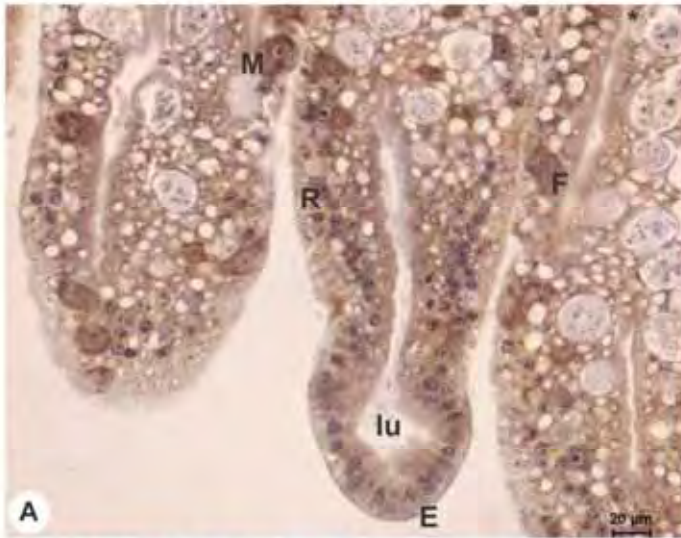
**Figura 2:** Secções histológicas do hepatopâncreas de *Farfantepenaeus brasiliensis* submetidas ao teste histoquímico do azul de bromofenol. **A-C.** Túbulos hepatopancreáticos de fêmeas com gônadas desenvolvidas. Note a presença de proteínas (\*) principalmente no espaço intertubular (**is**), na borda em escova (**seta**) e nas células M (**M**) e F (**F**). **D-E.** Túbulos hepatopancreáticos de fêmeas com gônadas esgotadas. Observe a intensa marcação no conteúdo vacuolar (**v**) da célula B (**B**) e no citoplasma basal (**ponta da seta**) das células R (**R**) e B. **lu**= lúmen.





**Figura 3.** Secções histológicas do hepatopâncreas de *Farfantepenaeus brasiliensis* submetidas a testes histoquímicos. **A-B e D-E.** Teste de von Kossa. Em A e B, observe os túbulos hepatopancreáticos de fêmeas com gônadas desenvolvidas com reação negativa para célula E (**E**), moderada marcação nas células R (**R**) e F (**F**) e intensa positividade em células M (**M**). Em D e E, destaca-se a presença de cálcio nas células M dos túbulos hepatopancreáticos de fêmeas com gônadas esgotadas. **C e F.** Técnica de Baker. Note em C, o lipídio principalmente nas células F e M e no lúmen (**lu**) do hepatopâncreas de fêmeas com gônadas desenvolvidas. F mostra os túbulos de fêmeas com gônada esgotadas. **Ponta da seta**= borda em escova, **seta**= secreção sendo liberada no lúmen, **v**= vacúolo, **is**= espaço intertubular.





## DISCUSSÃO

Alterações na histologia e na histoquímica do hepatopâncreas são observadas em resposta a demanda fisiológica exigida tanto nos estágios de muda, como de reprodução e processos digestivos, sendo considerado então, um órgão fisiologicamente dinâmico com intensa atividade secretora (FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009). Neste sentido, alguns trabalhos foram desenvolvidos relacionando hepatopâncreas às fases de muda de crustáceos (AL-MOHANNA; NOTT, 1989; SOUSA; PETRIELLA, 2001; MARCOLIN et al., 2008), porém poucos em relação ao estágio gonadal (PETERLE, 2011).

O hepatopâncreas é o maior centro de reservas orgânicas e inorgânicas em decápodos e espera-se que ocorra uma mobilização dessas reservas para a maturação das gônadas (GIBSON; BARKER, 1979). Entretanto, comparando-se as espécimens fêmeas de *F. brasiliensis*, nos dois estágios gonadais aqui estudados, não foram encontradas diferenças consideráveis quanto à histoquímica das diversas células encontradas nos túbulos hepatopancreáticos. Muhlia-Almazán e Garcia-Carreño (2002), de maneira similar, comparando o conteúdo proteico do hepatopâncreas entre os estágios de muda de *Penaeus vannamei* também não observaram diferenças significativas, porém verificaram que as alterações na atividade proteolítica deste órgão são influenciadas diretamente pela abstinência de alimento.

Segundo Ceccaldi (1989), o processo de absorção ocorre nas células cilíndricas e alongadas com borda em escova. Estas contêm gotículas associadas com pigmentos carotenóides, glicogênio, cristais de fosfato de cálcio, etc., ocorrendo o armazenamento do material e seu reuso imediatamente após a exúvia a fim de reconstituir novos tecidos. A marcação pelo PAS da borda em escova das células que atingem o lúmen hepatopancreático de *F. brasiliensis* aponta a ocorrência da absorção de polissacarídeos neutros diretamente da alimentação e/ou liberação a partir destas células, entretanto, a presença destes elementos no espaço intertubular indica também seu acúmulo na hemolinfa circulante.

Ramos e Zerbo-Tremacoldi (2006) em estudo histoquímico com hepatopâncreas de camarões *Macrobrachium acanthurus* do sul da Bahia, Brasil, verificaram a presença de glicogênio e de glicoproteínas livres no citoplasma de algumas células. Segundo Ceccaldi (1989), carboidratos e enzimas digestivas foram detectados em todos crustáceos já estudados: amilases, sacarases, maltases, laminarases, quitinases e até celulases, em algumas espécies e aponta, ainda, a presença de vacúolos PAS positivos próximos ao núcleo das células F. Entretanto, neste estudo, ficou evidenciada a secreção com propriedades polissacarídicas



neutras no interior do grande vacúolo da célula B do hepatopâncreas de *F. brasiliensis*, enquanto as células reabsorptivas tiveram principalmente os glicoconjugados ácidos marcados em seus vacúolos, corroborando Peterle (2011) que menciona, além disto, a presença de proteína nas células B. Segundo Icely e Nott (1992), alguns nutrientes e fluidos são absorvidos pelas células F e B por pinocitose e outros assimilados pelas células R pelo contato com os microvilos, havendo posteriormente o transporte molecular na célula.

Rosas et al. (1995) fazendo uma correlação entre a taxa de consumo de oxigênio e a concentração de glicogênio na glândula digestiva verificaram que, em *Penaeus setiferus*, a assimilação dos nutrientes e a síntese de glicogênio inicia-se cerca de 2 horas após a alimentação, sendo após 24 horas, seus níveis bem menores. Assim, nesta fase, as células já liberaram seu produto de secreção, podendo ser visto polissacarídeo principalmente no lúmen tubular, como evidenciado nas fêmeas esgotadas de *F. brasiliensis*.

Ainda que polissacarídeos sejam detectados no hepatopâncreas de *F. brasiliensis*, Johnston e Davies (1972) observaram que estes polímeros (incluindo glicogênio), no caso de *Carcinus maenas*, predominam na hemolinfa sendo 75-80% dos carboidratos em circulação, entretanto, no hepatopâncreas, estes correspondem a não mais de 10-20%.

Marcolin et al. (2008), em estudo realizado com *Ucides cordatus* nos estágios de intermuda e pré-muda inicial, observaram uma intensa coloração ao azul de bromofenol próxima à membrana plasmática e no citoplasma dos quatro tipos celulares observados (células E, F, R e B), sendo mais intenso nas células E e F, enquanto os vacúolos de R, F e B foram negativos. Esta marcação histoquímica diferenciada entre os tipos celulares foi discutida nos trabalhos de Momin e Rangneker (1972, 1975) que observaram a presença de fosfatases ácidas e alcalinas, bem como de enzimas oxidativas, no hepatopâncreas de *Scylla serrata*, sendo geralmente as células R as que apresentaram maior concentração.

Entretanto, neste estudo, o hepatopâncreas de *F. brasiliensis* teve o citoplasma das células F fortemente marcado pelo teste, indicando o papel destas na síntese e/ou armazenamento de proteínas, como também verificado por Johnston et al. (1998), Al-Mohanna e Nott (1989), Ramadevi et al. (1990), Vogt (1994), Sousa e Petriella (2000) e Peterle (2011) em decápodos *Thenus orientalis*, *Ocypoda platytarsis*, *Palaemonetes argentinus*, *Astacus astacus* e *Xiphopenaeus kroyeri*, respectivamente. Tal marcação pode ser devida à síntese e secreção, por estas células F, de numerosos grânulos de zimogênio (ICELY; NOTT, 1992), geralmente localizados na região apical e encontrados após a ingestão de alimento, para a digestão extracelular. Além disto, Spindler et al. (1992) apontaram a ocorrência da síntese de hemocianina e de outras proteínas na glândula do intestino médio do

lagostim *Astacus leptodactylus*, com mudanças pronunciadas nas taxas de síntese durante ao ciclo de muda, sendo estas maiores no fim da intermuda e início do estágio de pré-muda, ou seja, em período final de alimentação.

Esta forte marcação para proteínas em algumas células também se deve à presença de tripsina e quimotripsina, as mais abundantes enzimas proteolíticas da glândula digestória de camarões (DALL et al., 1990), responsáveis, segundo Galgani (1985), por mais de 60% das proteínas de digestão presentes na glândula do intestino médio de peneídeos.

Semelhantemente, as células M foram intensamente marcadas pelo azul de bromofenol, corroborando Ceccaldi (1989) que aponta que estas são ricas em proteínas e grandes vacúolos por possuírem função de armazenamento, sendo sua existência, aparência e reserva variável de acordo com o ciclo do animal. Possivelmente, estas células obtenham parte do material proteico da hemolinfa e, por meio de suas projeções citoplasmáticas, transferem para as células F que ao se diferenciarem em células B, acumulam certa quantidade desta substância nos grandes vacúolos. Entretanto, acredita-se que esta reserva do hepatopâncreas pode também ter origem a partir da alimentação, via tubo digestório. Essa capacidade da célula M de estocar material de origem proteica no hepatopâncreas de peneídeos também foi citada por Al-Mohanna et al. (1985b) para *P. semisulcatus* e por Peterle (2011) para *X. kroyeri*.

A marcação pelo azul de bromofenol principalmente na região citoplasmática perinuclear e basal das células R, bem como no espaço intertubular, indica a possibilidade de absorção de proteínas, por estas células, a partir da hemolinfa ou ainda, liberação destas para a hemolinfa. Segundo Marcolin et al. (2008), a borda em escova também conferiu a alta capacidade das células R de absorção de nutrientes a partir do lúmen tubular, estrutura esta que apresentou, neste estudo, propriedades principalmente proteicas e polissacarídicas.

É relatado que o cálcio é um elemento essencial para os crustáceos, pois sua absorção e liberação estão relacionadas à formação de uma nova carapaça (MARCOLIN et al., 2008). Vijayan e Diwan (1996) observaram, em estudos com *Penaeus indicus*, mudanças nos níveis de cálcio na glândula do intestino médio quando comparadas antes e depois da ecdise e, segundo estes autores, este elemento provavelmente seja reabsorvido do exoesqueleto velho durante a pré-muda e transportado para o hepatopâncreas para seu subsequente uso na mineralização pós-muda.

Entretanto, Vijayan e Diwan (1996), ao verificarem as variações de cálcio no exoesqueleto, músculo, hemolinfa e hepatopâncreas de *P. indicus* durante o ciclo de muda, sugeriram que a maior fonte para mineralização da cutícula é a absorção direta do ambiente

marinho, sendo o cálcio vindo dos tecidos apenas um suporte para a elevada demanda pós-muda. Ao contrário, os crustáceos de água doce têm como maior fonte para a calcificação do exoesqueleto o cálcio armazenado nos tecidos como: estômago, glândula do intestino médio e hemolinfa (STEVENSON, 1985).

Scott-Fordsmand e Depledge (1997) verificando o conteúdo de cálcio no hepatopâncreas de *Carcinus maenas* entre os estágios de muda observaram redução na fase de ecdise, aumento na pós-muda e alterações não significativas entre a intermuda e pré-muda; e estes, quando submetidos à água contaminada com cobre durante a ecdise e pós-muda, apresentaram conteúdo de cálcio no hepatopâncreas diminuído em 77%. Já Chavez-Crooker et al. (2003) observaram maior concentração de cálcio intracelular nas células R e E na fase de pré-muda que na intermuda de lagosta e sugeriram que a acumulação deste cátion nestas células ocorre antes da muda, sendo nas células E, essenciais para regulação da mitose.

Apesar da maioria dos trabalhos relacionarem a presença de cálcio aos estágios de muda, este estudo não mostrou diferenças consideráveis, na marcação histoquímica para este elemento, nas células M e F do hepatopâncreas entre fêmeas de *F. brasiliensis* com gônadas desenvolvidas e esgotadas. Estas células são as grandes responsáveis pelo armazenamento deste elemento, uma vez que foram as que mais reagiram à técnica histoquímica de von Kossa, características estas também encontradas em *X. kroyeri* por Peterle (2011). Assim como essa autora, Al-Mohanna e Nott (1987) e Paquet et al. (1993) observaram também, a presença de cálcio entre os vacúolos citoplasmáticos das células R. O fato do hepatopâncreas das fêmeas de *F. brasiliensis* com gônadas esgotadas terem apresentado marcação menos intensa para o cálcio, provavelmente indica que estas poderiam estar em fase de pré-muda ou até a pós-muda inicial, quando o animal não se alimenta e suas reservas são voltadas para a formação e endurecimento da nova carapaça.

Segundo a literatura, as células R absorvem nutrientes solúveis no lúmen do intestino e estocam lipídios e glicogênio (AL-MOHANNA; NOTT, 1989), constituindo, segundo Icely e Nott (1992), o principal local de estocagem destes materiais. Ceccaldi (1989) também afirma que estas células contem múltiplos vacúolos preenchidos com lipídios osmiofílicos, além de pequenos depósitos calcários e glicogênio. Apesar das células R terem apresentando numerosos vacúolos para o armazenamento destes elementos, neste tipo celular das fêmeas de *F. brasiliensis* aqui estudadas, o lipídio foi observado em pequena quantidade.

O camarão branco *L. vannamei* mostrou um decréscimo nos níveis de lipídios totais no hepatopâncreas, associado a um aumento nos ovários, durante os primeiros estágios de desenvolvimento gonadal, não havendo, ao contrário de outras espécies, queda significativa

nos demais estágios e depois da desova (WOUTERS et al., 2001). Segundo estes autores, esta característica dos estágios iniciais parece ser resultado do decréscimo de triacilglicerol no hepatopâncreas e aumento deste nos ovários durante a maturação. Sendo assim, os níveis baixos de lipídio aqui observados tanto em fêmeas com gônadas desenvolvidas como nas esgotadas, pode ser devido ao uso destas reservas para fins reprodutivos com o desenvolvimento de ovócitos, sendo seu acúmulo responsável, ao menos em parte, pelo aumento da massa ovariana durante os primeiros estágios de maturação gonadal.

Apesar disto, Wouters et al. (2001), contrariando vários outros trabalhos, concluíram que ainda que essa glândula seja o centro de armazenamento e processamento de lipídios, alguns lipídios ovarianos são derivados de outras reservas corpóreas e/ou da síntese *de novo*, sendo sua maior parte adquirida a partir da dieta, assim como observado em *M. rosenbergii* por Cavalli (2000) e em caranguejos *Armases cinereum* e *Sesarma reticulatum* por Hasek e Felder (2005).

Em *L. vannamei* foi vista, inclusive, uma redução nos níveis de lipídios totais nos ovários de fêmeas esgotadas, bem como *nauplius* com níveis maiores que os ovários completamente desenvolvidos, indicando que ocorre a transferência deste elemento para a prole (WOUTERS et al., 2001).

Desta forma, a semelhança quanto à composição histoquímica das células do hepatopâncreas de fêmeas com gônadas desenvolvidas comparadas àquelas esgotadas, justifica-se pela transferência destes elementos para os ovócitos ocorrerem em quantidade significativa apenas nos estágios iniciais do desenvolvimento gonadal de *F. brasiliensis* e/ou ainda, estarem mais relacionadas com o estágio de muda, como no caso do cálcio.

Além disto, vale salientar que, apesar de ser de conhecimento que durante a reprodução e muda a demanda energética aumenta, esta pode variar fisiologicamente e entre as espécies, sendo reflexo, segundo Kyomo (1988), das flutuações entre o órgão de estoque e o de utilização da energia que, por sua vez, é variável com o tempo e habitat. Entretanto, neste estudo, nenhuma diferença histoquímica considerável foi vista quando comparado o mesmo tipo celular entre nos estágios analisados.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos aos pescadores David e Demeci do litoral sul do Espírito Santo pela cooperação na coleta dos espécimens e também, a Gerson Mello Souza e Izabela Braggião Calligaris pelo auxílio técnico.

## REFERÊNCIAS

- AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. D. M-“midget” cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* de Haan 1884 (Decapoda: Natantia). **Crustaceana**, v. 48, p. 260-268, 1985b.
- AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. D. R-cells and the digestion cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). **Marine Biological**, v. 95, p. 129-137, 1987.
- AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. D. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. **Marine Biology**, v. 101, p. 503-544, 1989.
- BAKER, J. R. The histochemical recognition of lipine. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, Oxford, v. 87, p. 441-470, 1946.
- BARKER, P. L.; GIBSON, R. Observations on the structure of the mouthparts, histology of the alimentary tract, and digestive physiology of the mud crab *Scylla serrata* (Forsk.) (Decapoda: Portunidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 32, p. 177-196, 1978.
- BAUER, R. T.; LIN, J. Temporal patterns of reproduction and recruitment in populations of the penaeid shrimps *Trachypenaeus similis* (Smith) and *T. constrictus* (Stimpson) (Crustacea: Decapoda) from the north-central Gulf of Mexico. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 182, p. 205-222, 1994.
- CAVALLI, R. O. 2000. **Broodstock nutrition and offspring quality of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man)**. Dissertation (PhD). Faculty of Agricultural and Applied Biological Sciences, Ghent University, Ghent, Belgium, 2000.
- CECCALDI, H. J. Anatomy and physiology of digestive tract of Crustaceans decapods reared in aquaculture. **Advances in Tropical Aquaculture**, 9: 243-259, 1989.
- CHAVEZ-CROOKER, P.; POZO, P.; CASTRO, H.; DICE, M. S.; BOUTER, I.; TANGUY, A.; MORAGA, D.; AHEARN, G. A. Cellular localization of calcium, heavy metals, and metalotioneína in lobster (*Homarus americanus*) hepatopancreas. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 136, p. 213-224, 2003.
- DALL, W.; HILL, P.; ROTH LISBERG, C.; SHARPLES, D. The biology of the Penaeidae. In: BLAXTER, J.; SOUTHWARD, A. (Eds). **Advances in Marine Biology**, 27, London: Academic Press, 1990. 489 pp.
- DALL, W.; MORIATY, D. J. W. Functional aspects of nutrition and digestion: The midgut. In: BLISS, D. E.; MANTEL L. H. (Eds). **The biology of Crustacea**. International anatomy and physiological regulation: Academic Press, 1983. p. 215-261.
- FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B.; RIBEIRO, K.; PAPA, L. P.; MARQUES JUNIOR, J.; VICENTINI, C. A.; VALENTI, P. M. C. M. Histoarchitectural features of the hepatopancreas

of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. **International Journal of Morphology**, v. 27, n. 1, p. 121-128, 2009.

GALGANI, F. G. Regulation de l'activite des proteases digestives de *Penaeus japonicus* Bate en relation avec la temperature. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 94, p. 11-18, 1985.

GIBSON, R.; BARKER, P. L. The decapod hepatopancreas. **Oceanographic Marine Biology Annual Review**, v.17, p. 285-346, 1979.

HASEK, B. E; FELDER, D. L. Biochemical composition of ovary, embryo, and hepatopancreas in th grapsoid crabs *Armases cinereum* and *Sesarma nr. reticulatum* (Crustacea, Decapoda). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v. 140: 455-463, 2005.

HIRSCH, G. C.; JACOBS, W. Der Arbeitsrhythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. Teil: Methodik und Technik, 1928. – In: HARRISON, F. W. (Ed.). **Microscopic Anatomy of Invertebrates**. New York: Wiley-Liss, 1992. p. 147-201.

ICELY, J. D.; NOTT, J. A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. In: HARRISON, F. W.; HUMES, A. G. (ed.), **Microscopic Anatomy of Invertebrates**, vol.10, New York: Wiley-Liss, 1992. p. 147-201.

JACOBS, W. Untersuchungen über die Cytologie der Seretbildung in der mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. 1928 In: ICELY, J. D.; NOTT, J. A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. **Microscopic Anatomy of Invertebrates**. Decapod Crustacea, 1992. p. 147-201.

JOHNSTON, D. J.; ALEXANDER, C. G.; YELLOWLEES, D. Epithelial cytology and function in the digestive gland of *Thenus orientalis* (Decapoda: Scyllaridae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 8, n. 2, p. 271-278, 1998.

JOHNSTON, M. A.; DAVIES, P. S. Carbohydrates of the hepatopancreas and blood tissues of *Carcinus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, v. 41, n. 2, p.433-443, 1972.

JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Editora Santos, 1983. p. 48-81.

KYOMO, J. Analysis of the relationship between gonads and hepatopancreas in males of the crab *Sesarma intermedia*, with reference to resource and reproduction. **Marine Biology**, v. 97, p. 87-93, 1988.

MARCOLIN, C. R.; CARQUEIJA, C. R. G.; TOZETTO, S. O.; OLIVEIRA, D. C.; CÔRREA, A. M. A. Alterações morfológicas do hepatopancreas de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) em relação aos estádios de intermuda e pré-muda inicial. **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 10, n. 2, p. 97-104, 2008.



MOMIN, M. A.; RANGNEKER, P. V. Histochemical localization of acid and alkaline phosphatases and glucose-6-phosphatase of the hepatopancreas of the crab, *Scylla serrata* (Forsk.). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 14, n. 1, p. 1-16, 1972.

MOMIN, M. A.; RANGNEKER, P. V. Histochemical localization of oxidative enzymes in the hepatopancreas of *Scylla serrata* (Forsk.) (Brachyura: Decapoda). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 20, n. 3, p. 249-264, 1975.

MUHLIA-ALMAZÁN, A.; GARCIA-CARREÑO, F. L. Influence of moulting and starvation on the synthesis of proteolytic enzymes in the midgut gland of the White shrimp *Penaeus vannamei*. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part B**, v. 133, p. 383-394, 2002.

PAQUET, F.; GERMAIN, P.; FRITSCH, P. Étude ultrastructurale de la glande digestive du homard *Homarus gammarus*. Rôle des divers types cellulaires dans les processus digestifs. **Cahiers de Biologie Marine**, v. 35, p. 15-37, 1993.

PETERLE, G. T. **Aspectos morfológicos e funcionais do hepatopâncreas de camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (HELLER, 1862) (Crustacea: Penaeoidea) do litoral sul do Espírito Santo**. 2011. 51p. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil, 2011.

RAMADEVI, K. R. L. S.; SHYAMASUNDARI, K.; HANUMANTHA RAO, K. Observation on the hepatopancreas of *Ocypoda platytarsis* (Milne-Edwards) (Crustacea, Brachyura). **Bulletin of Zoology**, v. 57, p. 261-265, 1990.

RAMOS, A. P. S.; ZERBO-TREMACOLDI, A. C. Z. **Análise histoquímica do hepatopâncreas do camarão de água doce *Macrobrachium acanthurus* do Rio Cachoeira, sul da Bahia**. XII Seminário de Iniciação Científica da UESC, 2006.

RIBEIRO, K. **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal**. 2006. 98f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2006.

ROSAS, C.; BOLONGARO-CREVENNA, A.; SÁNCHEZ, A.; GAXIOLA, G.; SOTO, L.; ESCOBAR, E. Role of digestive gland in the energetic metabolism of *Penaeus setiferus*. **Biological Bulletin**, v.189, p. 168-174, 1995.

SCOTT-FORDSMAND, J. J.; DEPLEDGE, M. H. Changes in the tissue concentrations and contents of calcium, copper and zinc in the shore crab *Carcinus maenas* (L.) (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle and following copper exposure during ecdysis. **Marine Environmental Research**, v. 44, n. 4, p. 397-414, 1997.

SOUSA, L. G.; PETRIELLA, A. M. Histology of the hepatopancreas of the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Caridea). **Biocell**, v. 24, p.189-195, 2000.

SOUSA, L. G.; PETRIELLA, A. M. Changes in hepatopancreas histology of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Caridea) during moult. **Biocell**, v. 25, p. 275-281, 2001.

SPINDLER, K. D.; HENNECKE, R.; GELLISSEN, G. Protein production and the moulting cycle in the crayfish *Astacus leptodactylus* (Nordmann, 1842): II. Hemocyanin and protein synthesis in the midgut gland. **General and Comparative Endocrinology**, v. 85, n. 2, p. 248-253, 1992.

STEVENSON, J. R. Dynamics of the integument. In: **The Biology of Crustacea**, v.9. New York: Academic Press, 1985.

STORCH, V.; WELSCH, U. Elektronenmikroskopische und enzymhistochemische Untersuchungen der Mitteldarmdrüse der landlebenden Decapoden *Caenobita rugosus* und *Ocypode ceratophthalma*. **Zoologische Jahrbuecher Abteilung fuer Anatomie und Ontogenie der Tiere**, v. 97, p. 25-39, 1977.

VIJAYAN, K. K.; DIWAN, A. D. Fluctuations in Ca, Mg, and P levels in the hemolymph, muscle, midgut gland and exoskeleton during the moult cycle of the Indian white prawn, *Penaeus indicus* (Decapoda, Penaeidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 114<sup>a</sup>, n. 1, p. 91-97, 1996.

VOGT, G. Life-cycle and functional cytology of the hepatopancreatic cells of *Astacus astacus* (Crustacea, Decapoda). **Zoomorphology**, v. 114, p. 83-101, 1994.

VOGT, G.; STORCH, V.; QUINTIO, E. T.; PASCUAL, F. P. Midgut gland as a monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda). **Aquaculture**, v. 48, p. 1-12, 1985.

WOUTERS, R.; MOLINA, C.; LAVENS, P.; CALDERÓN, J. Lipid composition and vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation. **Aquaculture**, v. 198, p. 307-323, 2001.



## *Capítulo 3*

---

### CAPÍTULO 3

**Ultraestrutura das células R, F e B do epitélio hepatopancreático de camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) coletados no litoral sul do Espírito Santo, Brasil**

**Ultrastructure of the R, F and B cells of the hepatopancreatic epithelium of pink shrimps *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda, Penaeoidea) collected in southern coast of Espirito Santo, Brazil**

**AUTORES:** Erika Takagi Nunes<sup>1\*</sup>, Adriane Araújo Braga<sup>1</sup>, Maria Izabel Camargo-Mathias<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina Veterinária- Centro de Ciências Agrárias- Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/nº, Alegre/ES, Brasil, 29500-000.

<sup>2</sup> Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Av. 24A, 1515, Bela Vista, Rio Claro/SP, Brasil, 13506-765.

**\*AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA:** [erikatnunes@yahoo.com.br](mailto:erikatnunes@yahoo.com.br), Fone/FAX +55 28 3552-8666

## RESUMO

O hepatopâncreas exerce importante papel no metabolismo dos crustáceos interagindo nos processos fisiológicos como a reprodução e muda, além de responder rapidamente a alterações ambientais ou endógenas. Este trabalho teve por objetivo caracterizar, ultraestruturalmente, as células hepatopancreáticas R (reabsortivas), F (fibrilares) e B (vesiculares) de fêmeas adultas de *Farfantepenaeus brasiliensis* provenientes de Guarapari, litoral sul do Espírito Santo, Brasil. Para tal, fêmeas foram coletadas e triadas, sendo agrupadas aquelas com gônadas desenvolvidas (DE) e esgotadas (ES), para a posterior dissecação de fragmentos do hepatopâncreas. Após a fixação em glutaraldeído, o material foi submetido à rotina de Microscopia Eletrônica de Transmissão. As células R mostram citoplasma escasso em organelas, com mitocôndrias alongadas na região apical, retículo endoplasmático rugoso vesicular ou lamelar, além de vacúolos e corpos multivesiculares; lisossomos primários, autofagossomos e gotas lipídicas são vistos principalmente nas fêmeas ES. Dobras na membrana basal e uma lâmina basal fina e eletrondensa são também observadas nestas células. As células F apresentam vesículas de secreção próximas às microvilosidades, bem como grandes mitocôndrias; o retículo endoplasmático rugoso é muito desenvolvido, sendo algumas vezes encontradas em arranjo circular nas fêmeas DE, ou ainda, com cisternas dilatadas naquelas ES. As células B são marcadas pela presença de vesículas de pinocitose que, gradativamente, se fundem na região subapical, formando corpos digestivos de conteúdo eletrondenso; nas fêmeas ES, este material é visto em extrusão, com o rompimento das microvilosidades. Junções septadas estão presentes no contato entre as células. As características ultraestruturais são discutidas relacionando com as funções das células hepatopancreáticas F, R e B e seu papel na biologia desta espécie de crustáceo.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, hepatopâncreas, ultraestrutura.

## ABSTRACT

The hepatopancreas plays important role in the metabolism of crustaceans since it interacts in physiological processes such as reproduction and moult, and it responds quickly to environmental or endogenous changes. This study aimed to characterize ultrastructurally, the hepatopancreatic R cells (reabsorptive), F cells (fibrillar) and B cells (vesicular) of *Farfantepenaeus brasiliensis* adult females from Guarapari, south coast of the Espírito Santo, Brazil. To this, females were collected and grouped into those with developed gonads (DE) and those with exhausted ones (ES) for further dissection of the hepatopancreas fragments. After fixation in glutaraldehyde, the material was submitted for routine transmission electron microscopy. R cells show scarce organelles in cytoplasm, elongated mitochondria in the apical region, vesicular rough endoplasmic reticulum or in lamellar form, and vacuoles and multivesicular bodies; primary lysosomes, autophagosomes and lipid droplets are seen mainly in ES females. Folds in the basal membrane and a thin and electron dense basal lamina are also observed in these cells. F cells have secretory vesicles near the microvilli as well as large mitochondria; the rough endoplasmic reticulum is highly developed, being sometimes found in circular arrangement in DE females or with dilated cisterns in those ES females. B cells are marked by the presence of pinocytic vesicles that gradually merge in the subapical region, forming digestive bodies of electrondense content; in ES females this material is seen in extrusion with microvilli disruption. Septate junctions are present in the contact between cells. The ultrastructural features are discussed relating with the functions of the F, R and B hepatopancreatic cells and their role in the biology of this crustacean species.

**KEYWORDS:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, hepatopancreas, ultrastructure.

## INTRODUÇÃO

O hepatopâncreas, órgão que assimila nutriente e representa a provisão de reserva de energia para o crescimento e metabolismo dos crustáceos (DALL; MORIATY, 1983), está associado ao intestino médio e apresenta diferentes níveis de complexidade entre as espécies (GIBSON; BARKER, 1979).

Além disto, é considerado um indicador do metabolismo, da fase de ecdise, da condição nutricional e da presença de doenças em várias espécies de decápodos (AL-MOHANNA; NOTT, 1989; BAUTISTA et al., 1994; ROSAS et al., 1995).

Quatro tipos celulares são identificados no epitélio do hepatopâncreas dos decápodos, sendo a localização destes tipos variável ao longo do túbulo: E (embrionária), R (reabsortiva), F (fibrilar), B (vesicular), de acordo com o esquema proposto por Hirsh e Jacobs (1928) apud Icelly e Nott (1992) para o lagostim *Astacus leptodactylus*. Entretanto, algumas espécies de peneídeos, como o camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (NUNES, informação pessoal) e o camarão-sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (PETERLE, 2011), apresentam também, a célula M (basal).

As células E são as responsáveis pela renovação celular do epitélio dos túbulos hepatopancreáticos (ICELLY; NOTT, 1992); as células F sintetizam e secretam zimogênio para digestão extracelular e, subsequentemente, se diferenciam em células B responsáveis pela digestão intracelular (AL-MOHANNA et al., 1985a); as células R absorvem metabólitos do lúmen e pequenas partículas da hemolinfa e os estocam como lipídio e glicogênio (AL-MOHANNA; NOTT, 1987); enquanto as células M são as responsáveis pelo material de origem proteica estocado no hepatopâncreas (AL-MOHANNA et al., 1985b).

Estudos sobre o hepatopâncreas de Decapoda, sob microscopia eletrônica de transmissão, foram desenvolvidos com algumas espécies de Dendrobranchiata: *Penaeus semisulcatus* (AL-MOHANNA et al., 1985b), *P. vannamei* (CACECI et al., 1988), *P. monodon* (VOGT, 1985), *P. setiferus* (LOVETT; FELDER, 1990c); carídeos como *Palaemon serratus* (PAPATHANASSIOU; KING, 1984) e *Palaemonetes argentinus* (SOUSA et al., 2005); e Brachyura como *Carcinus maenas* (STANIER et al., 1968) e *Ucides cordatus* (CORRÊA JR et al., 2002). Entretanto, são poucos os trabalhos sobre a ultraestrutura do hepatopâncreas de *Farfantepenaeus* e/ou que relacionem a influência do estágio de desenvolvimento das gônadas neste órgão.

O camarão-rosa *F. brasiliensis* é encontrado desde o Atlântico Ocidental-EUA até o Brasil (Amapá até o Rio Grande do Sul) (COSTA et al., 2003) e apresenta em seu ciclo de

vida uma fase marinha, quando ocorre a reprodução e o desenvolvimento larval, e outra estuarina, quando há o rápido crescimento dos juvenis que, posteriormente, migrarão para o oceano a fim de completar o ciclo de vida no mar aberto (IWAI, 1978).

O presente estudo descreveu a ultraestrutura e a função de três principais tipos celulares do hepatopâncreas de fêmeas de *F. brasiliensis*, como parte de um projeto que busca caracterizar a estrutura hepatopancreática das fêmeas desta espécie de camarão-rosa estabelecendo uma relação com o estágio reprodutivo e seu papel como indicador de poluição ambiental.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Camarões**

Cerca de 30 camarões-fêmea *Farfantepenaeus brasiliensis*, sendo 15 com gônadas desenvolvidas (DE) e 15 com gônadas esgotadas (ES), foram coletados em Guarapari (S 20°41'259"), litoral sul do estado do Espírito Santo, Brasil. Foram consideradas fêmeas esgotadas aquelas com gônadas flácidas, localizadas no cefalotórax e de cor amarelo-claro, e desenvolvidas, aquelas com gônadas ocupando tanto o cefalotórax como o abdômen e de coloração verde escura. Os animais, anestesiados a frio, tiveram o tegumento da região cefalotorácica removido e o hepatopâncreas dissecado ainda no local de coleta.

### **Microscopia Eletrônica de Transmissão**

Fragmentos do hepatopâncreas das fêmeas de *F. brasiliensis* foram fixados em solução de glutaraldeído 2.5% em tampão cacodilato de sódio 0.1M (pH 7.2) durante 24 horas, à 4°C. A seguir, passaram por duas lavagens de 15 minutos cada em solução tampão cacodilato de sódio 0.1 M. A pós-fixação foi realizada em tetróxido de ósmio 1% em solução tampão cacodilato de sódio 0.1 M, durante 2 horas, à temperatura ambiente, no escuro. Posteriormente, o material passou por mais duas lavagens de 15 minutos cada em solução tampão de cacodilato de sódio 0.1M e foi contrastado em solução de acetato de uranila 2% com acetona 10%, por 2 a 4 horas, no escuro.

A desidratação foi realizada em série crescente de acetona 50% a 95% e 100% duas vezes, com duração de 5 minutos cada. Logo após, o material permaneceu em mistura de acetona e resina na proporção de 1:1, por 12 horas. O material foi incluído em resina pura

com catalisador e colocado em estufa à 60°C durante 48 horas. Depois de polimerizados os blocos, foram realizadas as secções ultrafinas; posteriormente, estas foram coletadas em grades de cobre e contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo durante 45 e 10 minutos, respectivamente.

As análises foram feitas sob Microscópio Eletrônico de Transmissão PHILIPS 100 TEM, seguida da documentação fotográfica.

## RESULTADOS

As análises, sob a microscopia eletrônica de transmissão, demonstraram as características ultraestruturais dos tipos celulares R, F e B encontrados no hepatopâncreas dos camarões-fêmea da espécie *Farfantepenaeus brasiliensis* (Fig.1A). Entre estas células podem ser observadas especializações na membrana plasmática lateral, como junções do tipo septada (Fig. 1A, 1C).

As células F, R e B, em sua superfície apical, apresentam grande quantidade de microvilosidades, principalmente no hepatopâncreas das fêmeas DE, o que lhes confere uma maior área de absorção e/ou secreção (Fig. 1C, D).

As células R são as mais abundantes e encontram-se distribuídas ao longo de todo o túbulo. Comparada às demais células, apresenta um citoplasma escasso em organelas, com mitocôndrias eletrondensas, predominantemente alongadas, assim como suas cristas, estando localizadas principalmente na região apical (Fig. 1C, 2A, 2D). O retículo endoplasmático rugoso (RER) apresenta-se sob a forma vesicular ou lamelar, esta última geralmente próxima à região nuclear (Fig. 2B, 2F). Alguns vacúolos e corpos multivesiculares estão presentes no citoplasma (Fig. 1C, 2G).

No interior destas células, especialmente nas fêmeas ES, são também encontrados alguns lisossomos primários e autofagossomos de vários tamanhos, além de corpos residuais eletrondensos (Fig. 2D, 2G). Ainda nestas, as mitocôndrias apresentam as cristas curtas e desorganizadas (Fig. 2D, 2G), sendo também destacada a presença de grandes gotas lipídicas no citoplasma, observadas em tamanhos diversos e com conteúdo homogêneo (Fig. 2E, 2F).

Quanto ao núcleo, este pode ser visto redondo, com nucléolo evidente e pouca cromatina periférica, estando basal ou medialmente localizado e circundado por RER (Fig. 2B, 2 E, 2F).

Estas células apresentam, na região basal, retículo endoplasmático liso (REL) e mitocôndrias, além de dobras na membrana plasmática. A lâmina basal é fina e eletrondensa (Fig. 2C).

As células F são observadas principalmente na região médio-distal do túbulo, entre as células R e B, destacando-se por estar em maior número no hepatopâncreas das fêmeas DE.

No ápice destas células, próximo as suas microvilosidades, podem ser vistas vesículas de secreção que se fundem com a membrana plasmática apical para liberação de seu conteúdo no lúmen do túbulo (Fig. 3A). Grandes mitocôndrias arredondadas podem ser vistas distribuídas por todo o citoplasma (Fig. 3B, 3C, 3E), possuindo, nas fêmeas ES, curtas cristas que se localizam periféricamente (Fig. 3E). Numerosos ribossomos livres e ligados à membrana estão presentes. O RER apresenta-se muito desenvolvido, espalhado por todo o citoplasma, predominantemente sob a forma vesicular (Fig. 3). Nas fêmeas ES as cisternas desta organela aparecem mais dilatadas (Fig. 3F). Em alguns casos, ainda, o retículo é visto com suas cisternas concentricamente organizadas (Fig. 3D). Corpos multivesiculares e grandes vacúolos podem estar presentes no citoplasma (Fig. 3A, 3B).

O núcleo das células F está localizado na região central ou basal e apresenta-se redondo, com cromatina dispersa, além de nucléolo e poros evidentes no envelope (Fig. 1A, 3C, 3F).

As células B, frequentes na região proximal do túbulo hepatopancreático, apresentam mitocôndrias com cristas alongadas e RER desenvolvido na região supranuclear. Lisossomos e corpos multivesiculares também podem ser vistos no citoplasma deste tipo celular (Fig. 4A).

Nos dois estágios estudados, as células B são encontradas com diferentes aspectos ultraestruturais, devido a fase de diferenciação que, por sua vez, tem início a partir das células F.

Inicialmente, canais endocíticos podem ser vistos a partir das microvilosidades, dando origem a vesículas de pinocitose de diferentes tamanhos (Fig. 1C, 4B). Estas, já na região subapical se fundem para formar corpos digestivos com material eletrondenso em seu interior e que, gradativamente, vão aumentando de tamanho (Fig. 4C, D, E, F).

As células B maduras destacam-se pela presença de um grande vacúolo supranuclear que, quando muito expandido, provoca o deslocamento nuclear para a região mais basal e fica rodeado por uma pequena porção de citoplasma (Fig. 4E, F). Posteriormente, há extrusão do material deste vacúolo em direção ao lúmen, provocando o rompimento da membrana das microvilosidades e o desprendimento da célula de sua lâmina basal. Esta configuração da célula B madura é mais frequente nas fêmeas ES.

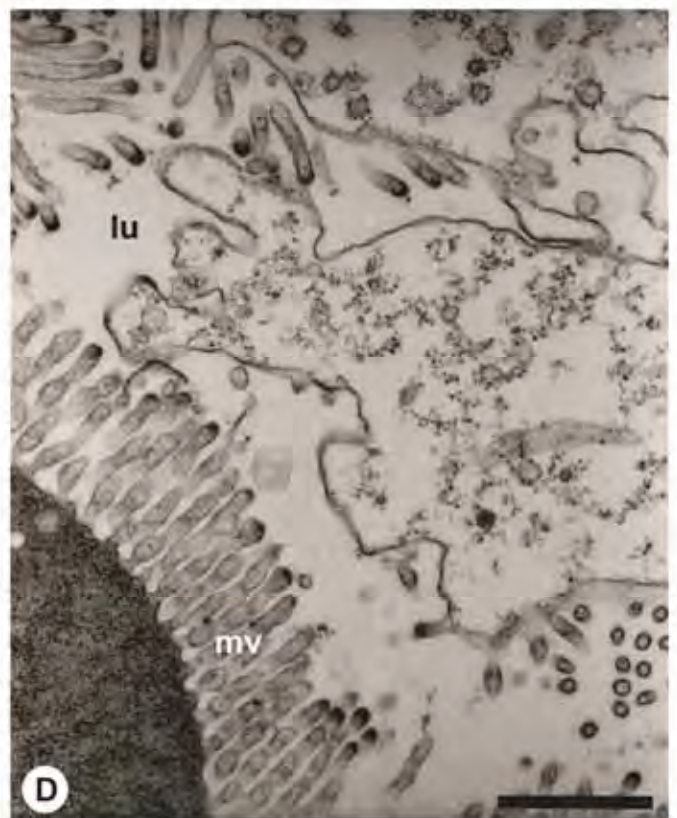
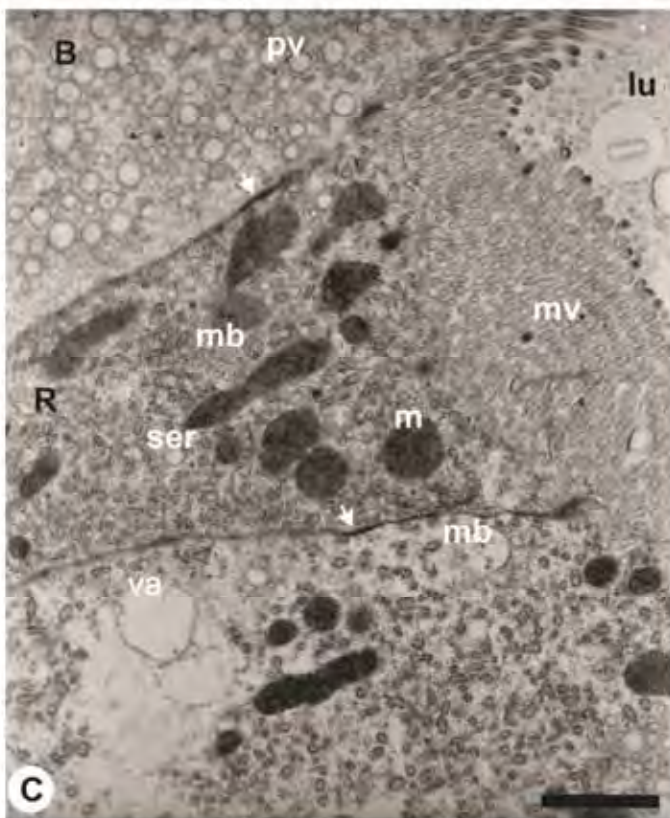
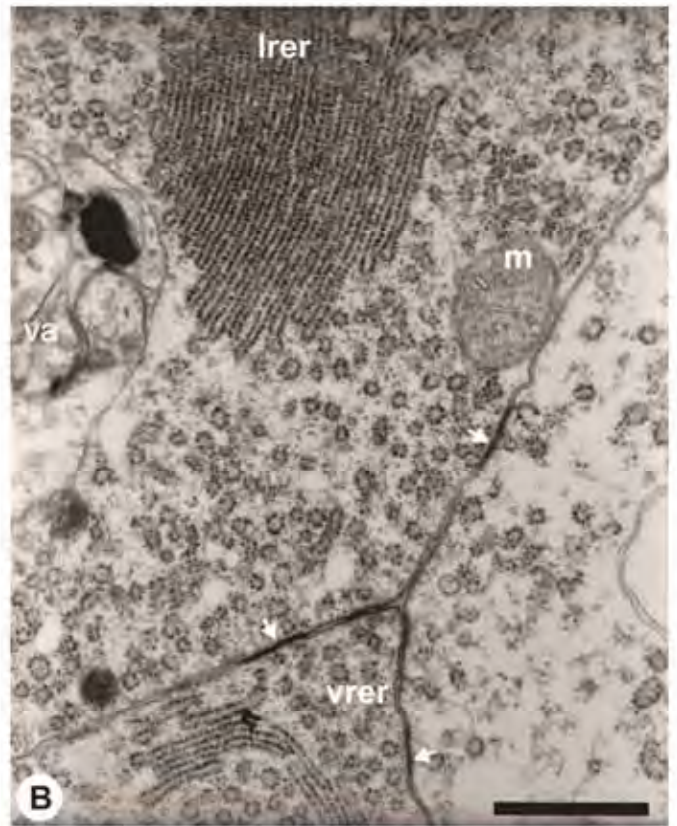
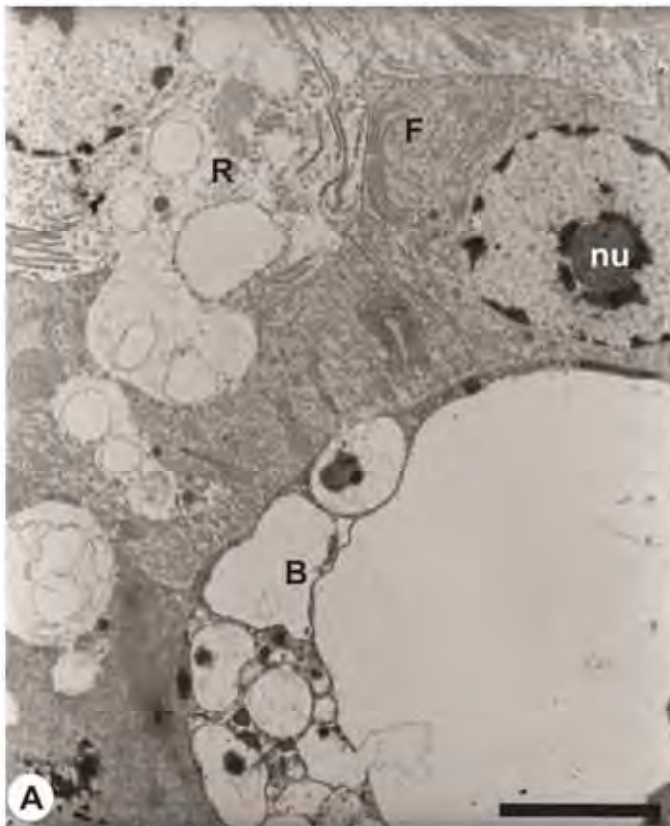


# FIGURAS

---

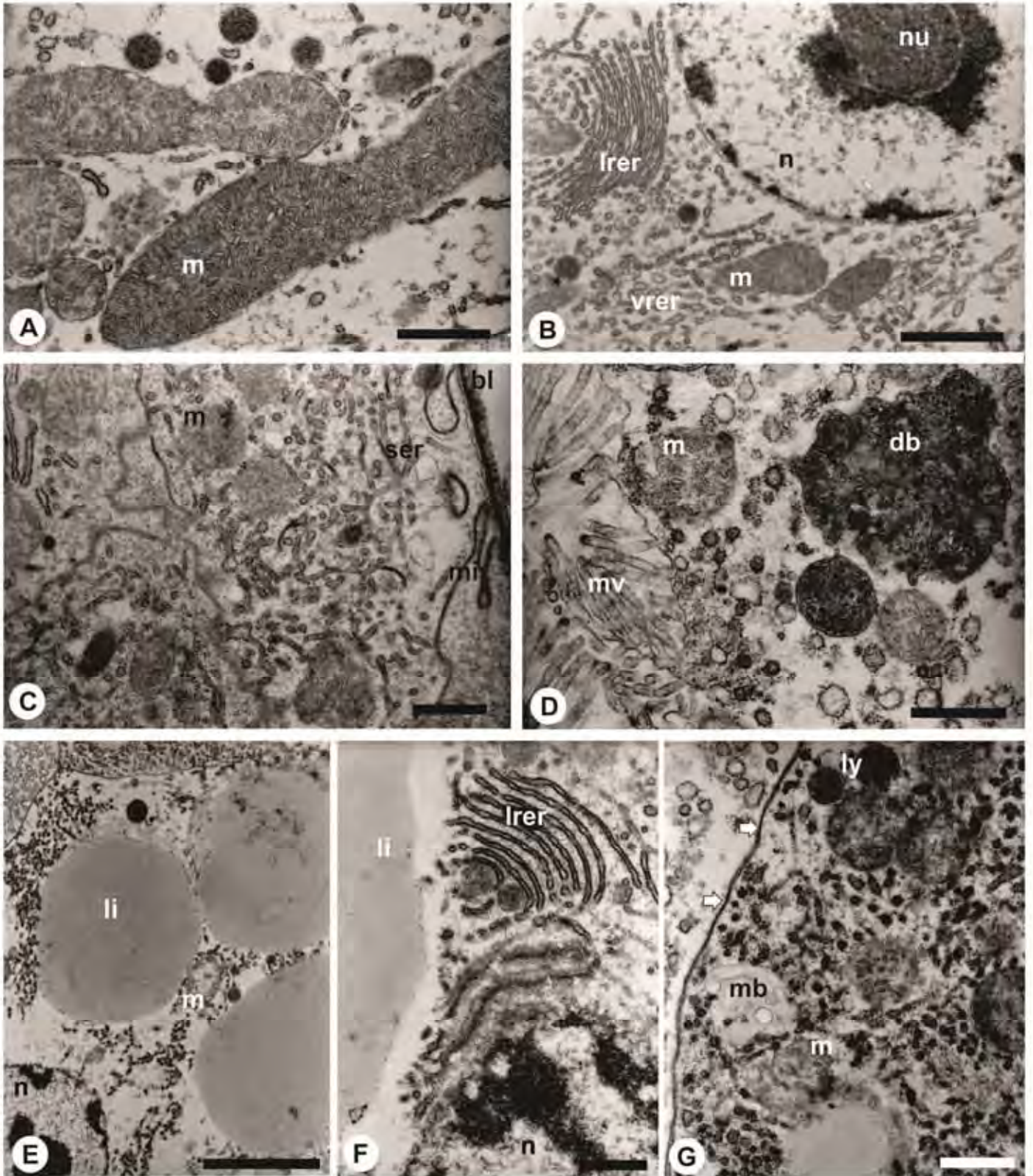
---

**Figura 1:** Hepatopâncreas de fêmeas adultas de *Farfantepenaeus brasiliensis*. **A.** Vista geral das células R, F e B. Observe em **B** e **C**, as junções septadas presentes no contato entre as células. **C. D.** Microvilosidades (**mv**) na região apical dos diferentes tipos celulares e a presença de material no lúmen (**lu**) dos túbulos. **m**= mitocôndria, **mb**= corpos multivesiculares, **B**= célula B, **R**= célula R, **F**= célula F, **seta**= junção septada, **vrer**= retículo endoplasmático rugoso vesicular, **lrer**= retículo endoplasmático rugoso lamelar, **ser**= retículo endoplasmático liso, **pv**= vesículas pinocíticas, **va**=vacúolo, **nu**= nucléolo. **Barras:** A= 5  $\mu$ m; B-D= 1  $\mu$ m.



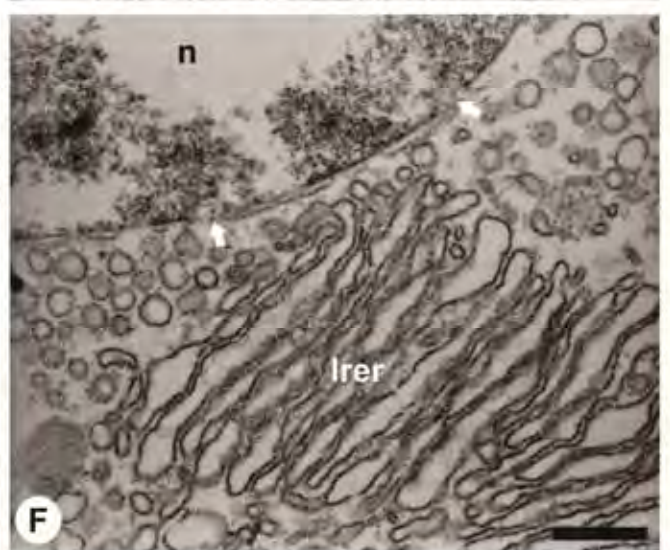
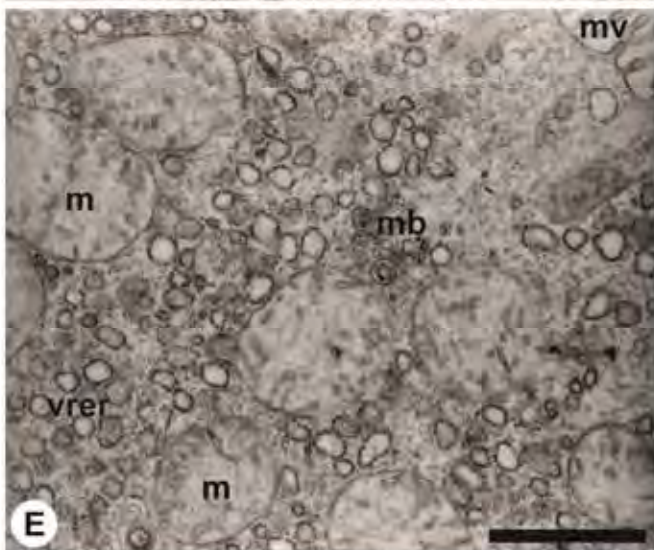
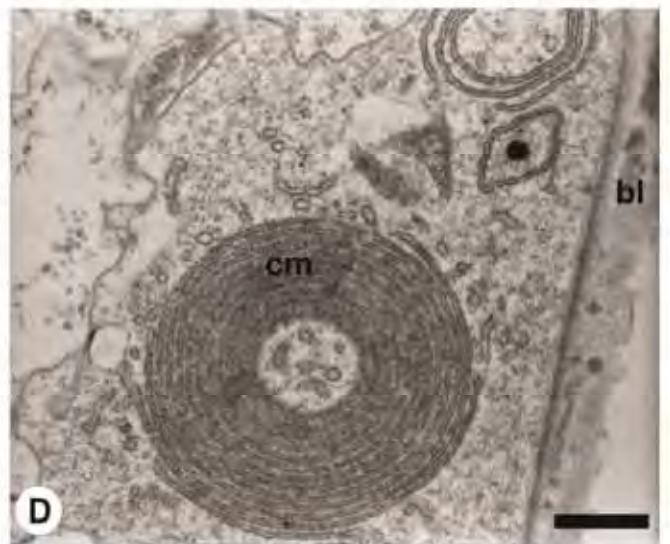
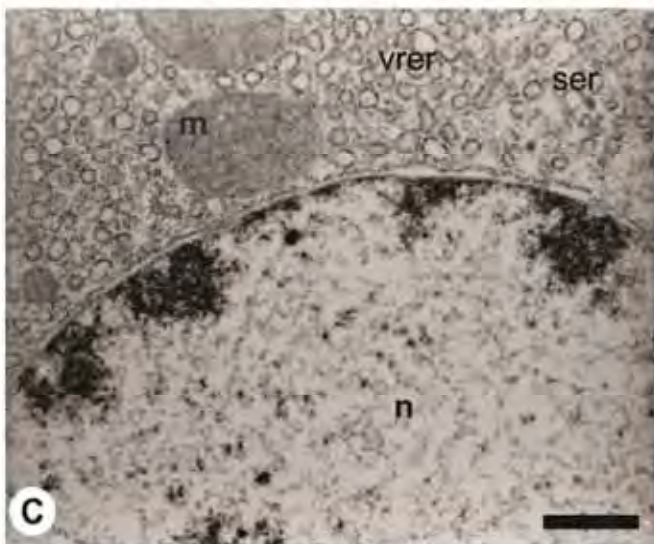
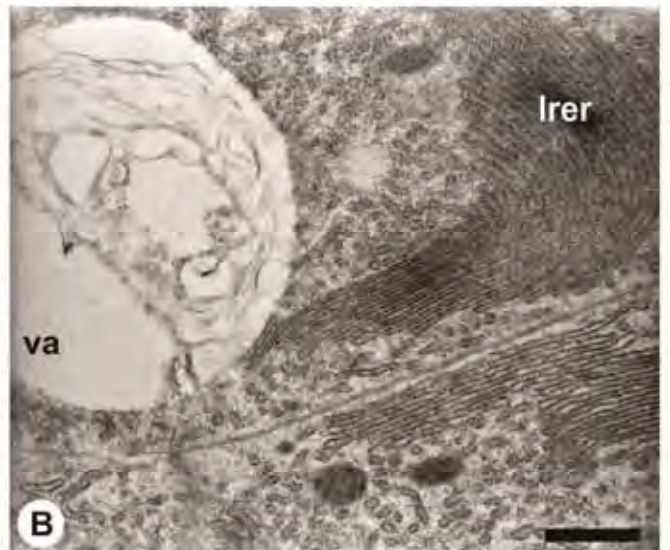
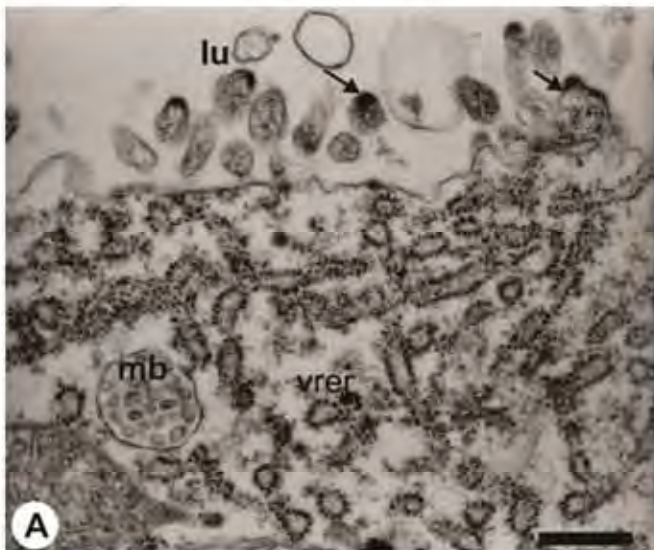
**Figura 2.** Detalhes ultraestruturais das células R do hepatopâncreas de *Farfantepenaeus brasiliensis* provenientes de fêmeas com gônadas desenvolvidas (**A-C**) e daquelas com gônadas esgotadas (**D-G**). Em C, observe a presença de dobras na membrana basal (**mi**), retículo endoplasmático liso (**ser**) e a fina lâmina basal (**bl**). Repare a diferença quanto à estrutura das mitocôndrias (**m**) e o armazenamento de lipídios (**li**) entre os dois estágios. Corpos multivesiculares (**mb**) e corpos digestivos (**db**) são vistos nas fêmeas esgotadas. **seta**= junção celular, **mv**= microvilosidades, **lrer**= retículo endoplasmático rugoso lamelar, **ly**= lisossomo, **n**= núcleo, **nu**= nucléolo. **Barras:** A= 0.5  $\mu\text{m}$ ; B= 2  $\mu\text{m}$ ; C, D, F, G= 1  $\mu\text{m}$ , E= 5  $\mu\text{m}$ .





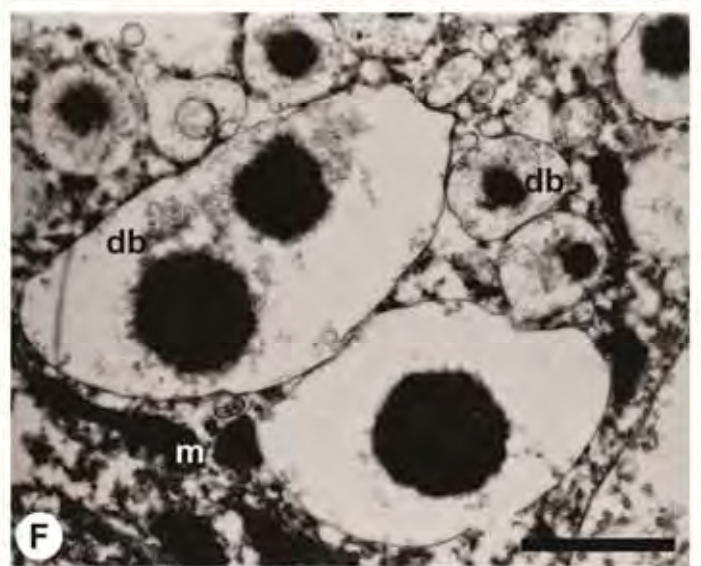
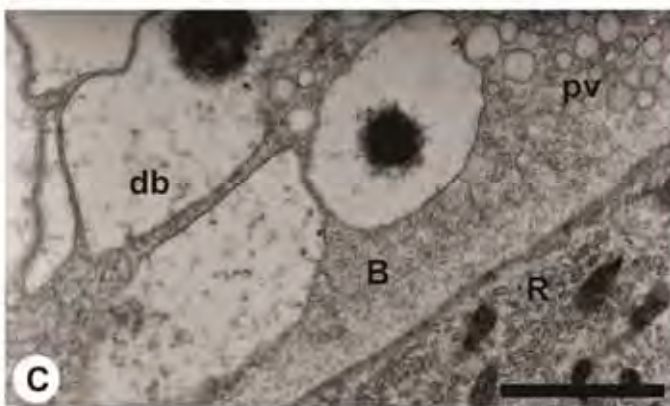
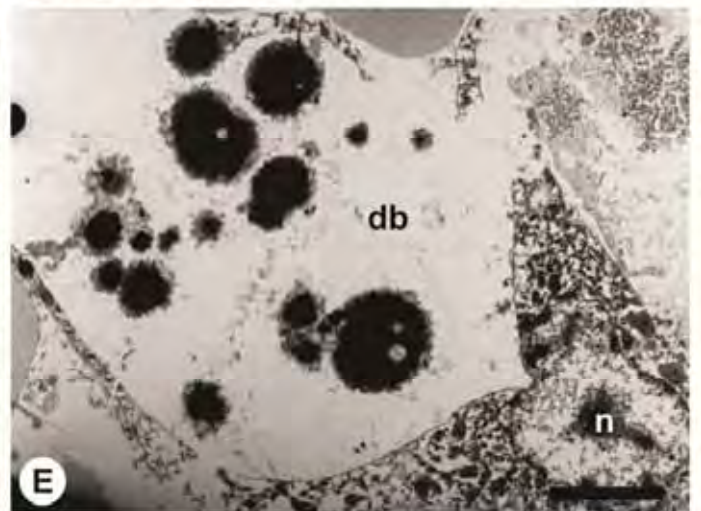
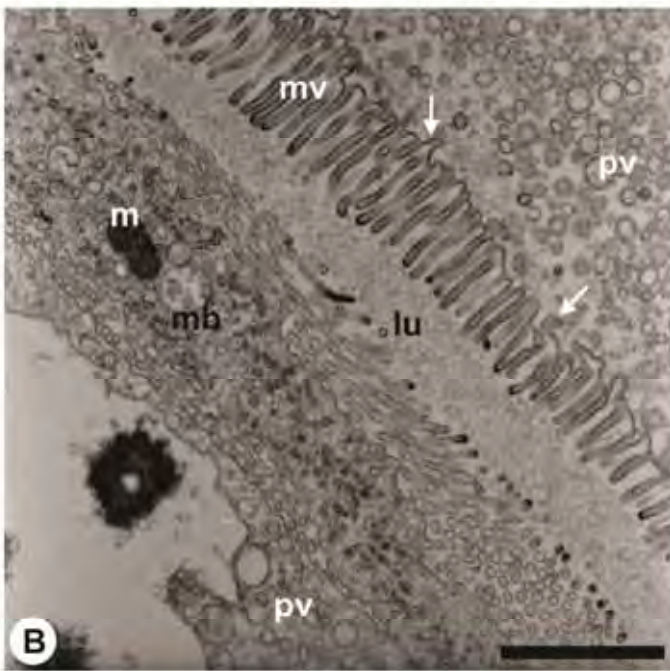
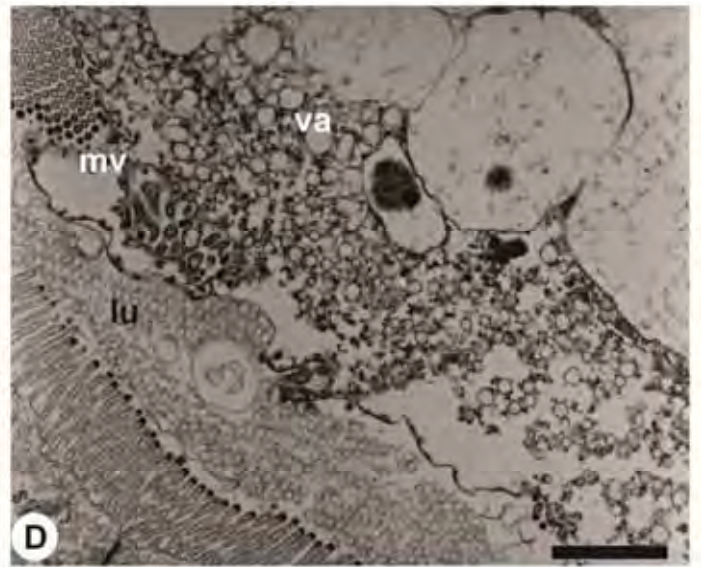
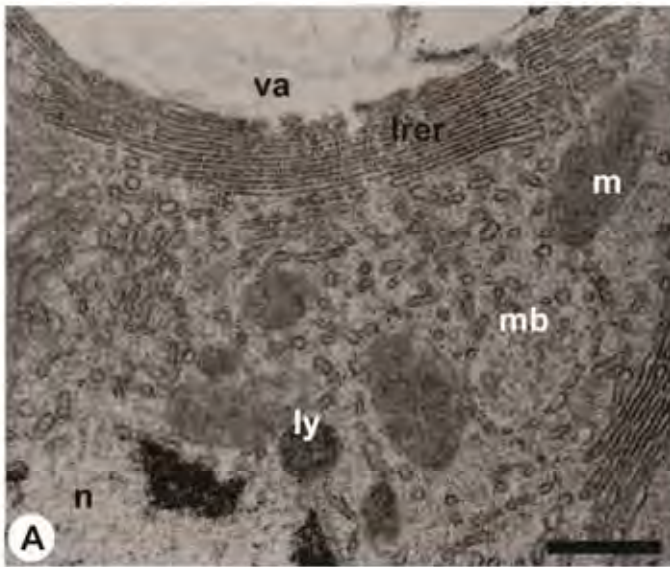
**Figura 3.** Detalhes ultraestruturais das células F do hepatopâncreas de *Farfantepenaeus brasiliensis* provenientes de fêmeas com gônadas desenvolvidas (**A-D**) e daquelas com gônadas esgotadas (**E-F**). Observe em A e B a secreção (**seta fina**) sendo eliminada no lúmen (**lu**) e detalhes do citoplasma apical rico em retículo endoplasmático rugoso. **C.** Região perinuclear. **D.** Note a presença de retículo sob a forma de membranas concêntricas (**cm**) na região basal e da espessa lâmina basal (**bl**). **E. F.** Observe as cristas mitocondriais curtas e cisternas dilatadas do retículo endoplasmático. **mb**= corpos multivesiculares, **va**= vacúolo, **vrer**= retículo endoplasmático rugoso vesicular, **lrer**= retículo endoplasmático rugoso lamelar, **ser**= retículo endoplasmático liso, **m**= mitocôndria, **n**= núcleo, **seta grossa**= poro nuclear. **Barras:** A, E = 0.5  $\mu\text{m}$ ; B, C, D, F= 1  $\mu\text{m}$ .





**Figura 4.** Detalhes ultraestruturais das células B (**B**) do hepatopâncreas de *Farfantepenaeus brasiliensis* provenientes de fêmeas com gônadas desenvolvidas (**A-D**) e daquelas com gônadas esgotadas (**E-F**) **A.** Região supranuclear com mitocôndrias (**m**) e retículo endoplasmático rugoso lamelar (**lrer**). **B.** Vesículas pinocíticas (**pv**) com material absorvido do lúmen (**lu**) são vistas no citoplasma apical. **C.-F.** Observe a presença de corpos digestivos (**db**) contendo material eletrondenso e em D, a eliminação deste material no lúmen com o rompimento das microvilosidades (**mv**). **ly**= lisossomo, **mb**= corpos multivesiculares, **seta**= canais endocíticos, **n**= núcleo, **R**= célula R. **Barras:** A= 1µm, B, C, D, F= 2µm, E= 5µm.





## DISCUSSÃO

As análises ultraestruturais das células epiteliais dos túbulos hepatopancreáticos de *F. brasiliensis* revelaram, de maneira geral, similaridades com as células R, F e B descritas para outras espécies de decápodos.

Nestas células foram observadas especializações da membrana plasmática: na região apical, as microvilosidades e, na lateral, as junções septadas. A presença de microvilosidades indica a função de absorção muito bem descrita em decápodos (CECCALDI, 1989). Entretanto, Icely e Nott (1992) apontam que a parte luminal das células F apresenta estas estruturas associadas a uma camada entérica, assim como observado nas células R de *U. cordatus* por Corrêa Jr et al. (2002), o que não foi evidenciado neste estudo.

Assim como Corrêa Jr et al. (2002), desmossomos não foram observados na região basolateral das células aqui estudadas. Estes autores encontraram um sistema tubular bem desenvolvido e junções septadas em *U. cordatus*, como também frequentemente visto em *P. vannamei* (CACECI et al., 1988). Segundo os mesmos, estas junções septadas são importantes na manutenção das membranas apicais e basolaterais e estão relacionadas ao transporte iônico. Desta forma, as junções aqui observadas no contato entre as células adjacentes são as responsáveis pelo transporte paracelular permitindo a passagem de pequenas moléculas e íons.

Comparada aos demais tipos celulares, as células R de *F. brasiliensis* apresentaram escassez de organelas. Assim como observado em *Macrobrachium amazonicum* por Ribeiro (2006), este tipo celular apresenta características absorptivas, tais como mitocôndrias próximas as microvilosidades apicais bem desenvolvidas, bem como de reserva, como os vacúolos supranucleares. Resultados semelhantes também foram encontrados nas mesmas células de *P. semisulcatus* (AL-MOHANNA; NOTT, 1987a).

Segundo Icely e Nott (1992), na assimilação e transporte de metabólitos dentro da célula R, há também o envolvimento de enzimas hidrolíticas, sendo, geralmente, as reações associadas às microvilosidades e ao citoplasma apical, progredindo em direção à região basal nos estágios tardios (VOGT, 1988 apud ICELY; NOTT, 1992).

Sousa et al. (2005) apontam a existência de polarização nestas células, divididas em três áreas: apical, com a presença de borda em escova, muitas mitocôndrias, túbulos de retículo endoplasmático liso e poucos vacúolos; medial, onde encontra-se o núcleo rodeado por retículo endoplasmático rugoso; e basal, dominada por grandes mitocôndrias e retículo endoplasmático liso em sistema tubular. A ultraestrutura das células R de *F. brasiliensis*

corroboram todos os resultados encontrados por estes autores para o carídeo *Palaemonetes argentinus*, até mesmo quanto à presença de pequenos lisossomos primários e autofagossomos, presentes principalmente nas fêmeas com estágio gonadal esgotado. De acordo com Papathanassiou e King (1986), a perda da organização da região apical das células R afetaria a transferência de fluido do e para o lúmen.

Segundo Icelly e Nott (1992), as cisternas do Golgi destas células são achatadas e produzem vesículas eletrondensas que se fundem em corpos multivesiculares e eventualmente são acumuladas dentro de vacúolos supranucleares. Os corpos multivesiculares observados no citoplasma nas células R do hepatopâncreas de *F. brasiliensis* também podem estar realizando permuta de substâncias e biomembranas com as organelas celulares antes de associar-se a lisossomos primários e transformar-se em lisossomo secundário, para então, dar-se início ao processo digestivo de seu conteúdo, função esta apontada por Lothhammer et al. (2009).

Além desta função na assimilação de nutrientes, as células R estão envolvidas no armazenamento de lipídio, glicogênio e metais, produtos influenciados pelo jejum e ciclo de muda (ICELY; NOTT, 1992). Ceccaldi (1989) aponta, além das esferas de glicogênio, a presença de pequenos depósitos de calcário e de vacúolos que progressivamente formam inclusão supranuclear com cobre, zinco e enxofre. Apesar de o glicogênio ser uma substância de reserva característica destas células, neste estudo, não foi evidenciada sua presença, assim como observado em *P. argentinus* por Sousa et al. (2005) que interpretaram a ausência deste nutriente devido ao constante suprimento via alimentação que ocorre na intermuda.

Apesar disto, as fêmeas com gônadas ES aqui analisadas destacaram-se pela presença de gotas de lipídios de diferentes tamanhos no citoplasma, importante para os estágios de privação de alimento e/ou reposição lipídica para o desenvolvimento de novos ovócitos.

Neste estudo, o REL foi visto principalmente próximo às invaginações da membrana plasmática basal, entretanto, também pode ocorrer na região apical em estágios específicos do ciclo digestivo (ICELY; NOTT, 1992), como apontado por Sousa et al. (2005). Estes autores afirmaram que, assim como o observado em outros decápodos, o sistema tubular do REL apical, em associação com as mitocôndrias apicais, está envolvido na absorção de nutrientes e, quando basal, está envolvido na passagem destes para outros órgãos, via hemolinfa. A proximidade desta organela às mitocôndrias pode indicar, ainda, a cooperação no metabolismo lipídico, sendo, algumas vezes, identificada a continuidade física entre suas biomembranas. Assim, as dobras na membrana observadas na região basal das células R de *F. brasiliensis*, junto à fina lâmina basal, facilitariam as trocas com a hemolinfa. Papathanassiou



e King (1984) indicam que estas dobras estão envolvidas no transporte de íons quando associadas ao RER e mitocôndrias.

As células R, de acordo com Al-Mohanna e Nott (1987), podem absorver materiais solúveis e partículas da hemolinfa por pinocitose, havendo nesta região da lâmina basal, inclusões eletrondensas, provavelmente corpos ricos em metais, que serão transportados da hemolinfa para as células, a fim de serem, posteriormente, eliminados (MANISSERI; MENON, 2006). Tal característica justificaria a eletrondensidade observada na lâmina basal deste tipo celular no hepatopâncreas de *F. brasiliensis*.

Estas células de *F. brasiliensis* apresentaram, ainda, pequena quantidade de retículo endoplasmático rugoso, mais frequente sob a forma vesicular, assim como observado por Papathanassiou e King (1986) que o encontraram com cisternas curtas e finas, sendo esta configuração principalmente encontrada na região apical das células R do camarão *Palaemon serratus*.

As células F do hepatopâncreas de *F. brasiliensis*, mais frequentes nas fêmeas com gônadas DE quando comparadas àquelas com gônadas ES, apresentam formato cilíndrico, borda em escova apical e mitocôndrias distribuídas ao redor do núcleo, além de retículo endoplasmático muito desenvolvido, o que corrobora Sousa et al. (2005).

No ápice deste tipo celular foram encontradas muitas vesículas de secreção. De acordo com Icely e Nott (1992), as células F são especializadas na síntese e secreção de enzimas digestivas em algumas fases do ciclo alimentar, o que justifica o citoplasma com extenso RER e com numerosos ribossomos aderidos à membrana, bem como dispersos no citoplasma. Peterle (2011), em seu estudo histoquímico do hepatopâncreas de *Xiphopenaeus kroyeri*, também observou intensa marcação para proteína neste tipo celular.

Alguns autores apontam a presença de grânulos de zimogênio na região apical (ICELY; NOTT, 1992). Este é sintetizado no RER, empacotado no Golgi e secretado para a digestão extracelular, posteriormente, material é captado para a digestão intracelular com a diferenciação em células B (AL-MOHANNA et al., 1985a). Entretanto, neste estudo, não ficou evidente a presença de grânulos de zimogênio e semelhantemente a Sousa et al. (2005) não foram encontradas reservas nas células F de *P. argentinus*.

Neste tipo celular, o retículo apresentou-se principalmente sob a forma vesicular, e, algumas vezes, com cisternas muito dilatadas. Em trabalho com *M. amazonicum*, Ribeiro (2006) afirmou que as cisternas dilatadas do RER e do Golgi são devidas à intensa síntese de substâncias, sendo os vacúolos supranucleares observados possivelmente associados à liberação destas substâncias no lúmen. A dilatação das cisternas pode, também, ser devido ao

acúmulo de cálcio que ocorre nesta organela durante algumas fases do ciclo de muda (CHAVEZ-CROOKER et al., 2003). Nunes et al. (dados não publicados) em estudo histoquímico com *F. brasiliensis*, apontaram esta presença de cálcio em grande quantidade nas células F do hepatopâncreas tanto em fêmeas com gônadas desenvolvidas como esgotadas.

Além disto, a forma do RER com curtas cisternas, em associação com menor número de mitocôndrias, poderiam indicar, segundo Papathanassiou e King (1986), inibição dos mecanismos de secreção de proteínas causada por íons cádmio. Porém, esta inferência é improvável no caso de *F. brasiliensis* que apresentou, além do RER desenvolvido, mitocôndrias arredondadas e níveis não detectáveis deste elemento nesta espécie de camarão-rosa (NUNES, informação pessoal).

Algumas vezes, o RER apresentou suas cisternas dispostas em formas concêntricas. De acordo com Lothhammer et al. (2009), esta seria uma forma espacialmente econômica para uma célula com RER abundante e com necessidade de acúmulo temporário de grande número de grânulos secretórios, entretanto, nas células F deste estudo, nenhuma granulação foi evidente.

Alguns trabalhos verificaram os efeitos da abstinência de alimento no hepatopâncreas de decápodos (STORCH; WELSCH, 1977; STORCH et al., 1982; PAPATHANASSIOU; KING, 1984), apontando algumas mudanças como: redução de tamanho celular, condensação de cromatina, rompimento de microvilosidades, redução de número, expansão ou condensação de mitocôndria, diminuição de lipídio e glicogênio armazenados, rompimento de retículo e grande número de corpos residuais, principalmente em células F. Apesar de corpos multivesiculares poderem ser encontrados nas células F do hepatopâncreas de *F. brasiliensis*, não foram observadas as demais alterações citadas, indicando que os espécimens estudados provavelmente não sofreram estresse nutricional.

Característica observada, tanto nas células hepatopancreáticas do tipo F como nas R das fêmeas esgotadas de *F. brasiliensis*, foi a presença de curtas cristas mitocondriais, e ainda, em algumas vezes, em quantidade reduzida. Papathanassiou e King (1986), analisando *P. serratus*, observaram mitocôndrias em menor número e com menor quantidade de cristas, além de algumas em degeneração ou inchadas, quando os animais eram expostos a concentrações de cádmio. Segundo estes autores estas mudanças afetariam a energia da célula pelo fato do cádmio combinar com algumas enzimas e inibir o sistema ATPase da membrana mitocondrial. Manisseri e Menon (2006) também observaram mitocôndrias estruturalmente afetadas por exposição a mercúrio, com cristas circulares ou ausentes em camarões

*Metapenaeus dobsoni*. Entretanto, análises espectrofotométricas realizadas com estes camarões-rosa, não apontaram níveis detectáveis de cádmio nem grandes quantidades de outros elementos, sendo então esta característica não devida à contaminação ambiental por metais pesados (NUNES, informação pessoal).

A lâmina basal destas células F apresenta-se mais espessa que aquela encontrada nas células R. De acordo com Ashhurst (1968) apud Abdalla e Cruz-Landim (2005), a lâmina basal, nos insetos, consiste em uma ou várias camadas de uma estrutura acelular constituída principalmente de glicosaminoglicanas e proteoglicanas, cuja função geral é constituir uma barreira de isolamento entre o epitélio e a hemolinfa. Sendo assim, devido a sua função tipicamente secretora, as células F apresentam-na mais espessa, enquanto as R, mais delgada, por realizar trocas com a hemolinfa e armazenar nutrientes.

O acúmulo de vesículas pinocíticas nestas células F leva a denominá-las de células B (RIBEIRO, 2006), assim como ocorre em *P. semisulcatus* (AL-MOHANNA; NOTT, 1989). Considerando isso e que, segundo modelo de Hirsch e Jacobs (1930), as células F se diferenciam nas células B, várias configurações ultraestruturais foram encontradas neste estudo.

Sousa et al. (2005) também observaram este tipo celular em vários estágios: o início da diferenciação marcado pela presença de um complexo apical constituído de canais endocíticos e vesículas que invaginam a partir da borda em escova; estas se fusionariam com vesículas do Golgi originando os vacúolos subapicais. Já na célula madura, o núcleo e as demais organelas encontram-se deslocados para a região basal devido expansão do vacúolo que ocupa quase todo o citoplasma e que, posteriormente, é eliminado por secreção holócrina.

A presença de vacúolos supranucleares e vesículas pinocíticas apicais, assim como aqui observado em *F. brasiliensis*, foram detectadas em *M. amazonicum* por Ribeiro (2006), confirmando a ocorrência da absorção de substâncias a partir do lúmen por estas células, responsáveis pela digestão intracelular (ICELY; NOTT, 1992). Entretanto, como no trabalho de Sousa et al. (2005), aqui não foram observados nutrientes no citoplasma, sendo as células B responsáveis por degradar enzimas e produtos não úteis presentes nos túbulos (VOGT, 1994).

Segundo Al-Mohanna e Nott (1986b), o avanço da digestão intracelular leva ao surgimento de inclusões com material amorfo envolto por corpos circulares e estruturas membranosas no citoplasma, podendo formar um grande vacúolo com esferas densas. Sendo assim, além dos lisossomos e corpos multivesiculares, vacúolos digestivos foram frequentes nas células B de *F. brasiliensis*. Durante sua maturação, também foi frequentemente

observada a liberação de material amorfo e lúcido para o lúmen, corroborando Corrêa Jr et al. (2002).

Icely e Nott (1992) apontam que, apesar de não serem observadas partículas traço nas células F, as células transicionais F-B as acumulam nas vesículas pinocíticas e subsequentemente, em corpos digestivos, vacúolos subapicais e vacúolos digestivos que se desenvolvem progressivamente depois de 12h após alimentação rica em proteína. As partículas inertes são retidas dentro de inclusões limitadas por membranas e eliminadas por secreção holócrina para o lúmen para ser defecado aproximadamente 24 horas depois da alimentação.

Como as fêmeas ES do camarão-rosa aqui estudadas provavelmente encontram-se em estágio de intermuda final a início de pré-muda (NUNES, informação pessoal), ou seja, em fase final de digestão, as células B apresentaram materiais acumulados no grande vacúolo apical prestes a ser ou já sendo eliminados para o lúmen. Al-Mohanna e Nott (1986b) observaram que nesta fase, ou seja, após aproximadamente 12 horas de alimentação, o vacúolo digestivo de *P. semisulcatus* apresentaram esferas de enxofre, havendo, na fase de extrusão, poucas mitocôndrias e RER no citoplasma marginal e núcleo achatado, como também observado no presente estudo.

Icely e Nott (1992) apontam que as enzimas hidrolíticas estão esparsas nas 12 primeiras horas do ciclo digestivo, havendo nos últimos estágios, fortes reações para fosfatases ácida e alcalina, amilase, tripsina e lipase, estas, particularmente no vacúolo supranuclear das células B. Algumas destas são produzidas pelo RER das células jovens ou obtidos dos vacúolos supranucleares das células F. Al-Mohanna e Nott (1986b) afirmam, ainda, que outras enzimas também são obtidas, por endocitose, junto aos nutrientes a partir do lúmen, sendo os produtos da digestão intracelular transferidos para a hemocele ou para as células R vizinhas. Uma vez armazenados como lipídio e glicogênio nas células R, também poderão atingir outros órgãos, via hemolinfa.

Os núcleos dos três tipos celulares aqui analisados conferem com as descrições feitas por Icely e Nott (1992), sendo nas células F, os poros bastante evidentes; o nucléolo destacado e a cromatina periférica das células R presente em menor quantidade que nas demais células; e na célula B madura, achatado e deslocado para o polo basal.



## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Flavio Henrique Caetano pela disponibilidade do Laboratório de Microscopia Eletrônica para a realização deste estudo ultraestrutural. Agradecimentos a Monika Iamonte e Antonio Teruyoshi Yabuki pelo auxílio técnico.

## REFERÊNCIAS

- ABDALLA, F. C.; CRUZ-LANDIM, C. Ocorrência, Morfologia e Ultra-Estrutura da Glândula de Dufour de *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 1, p. 47-57, 2005.
- AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. A.; LANE, D. J. W. Mitotic E and secretory F-cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 65, p. 901-910, 1985a.
- AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. A. M-“midget” cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* de Haan 1884 (Decapoda: Natantia). **Crustaceana**, v. 48, p. 260-268, 1985b.
- AL-MOHANNA; S. Y.; NOTT, J. A. B-cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**. 66: 403-414, 1986b.
- AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. A. R-cells and the digestion cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). **Marine Biology**, v. 95, p. 129-137, 1987.
- AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. A. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. **Marine Biology**, v. 101, p. 503-544, 1989.
- BAUER, R. T.; LIN, J. Temporal patterns of reproduction and recruitment in populations of the penaeid shrimps *Trachypenaeus similis* (Smith) and *T. constrictus* (Stimpson) (Crustacea: Decapoda) from the north-central Gulf of Mexico. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 182, p. 205-222, 1994.
- BAUTISTA, M. N.; LAVILLA-PITOGO, C.; SUBOSA, P. F.; BEGINO, E. T. Flatoxin B1 contamination of shrimp feeds and its effect on growth and hepatopancreas of preadult *Penaeus monodon*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 65, p. 5-11, 1994.
- CACECI, T.; NECK, K. F.; LEWIS, D. H.; SIS, R. F. Ultrastructure of the hepatopancreas of the pacific white shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 68, p. 323-337, 1988.

CECCALDI, H. J. Anatomy and physiology of digestive tract of Crustaceans decapods reared in aquaculture. **Advances in Tropical Aquaculture**, v. 9, p. 243-259, 1989.

CHAVEZ-CROOKER, P.; POZO, P.; CASTRO, H.; DICE, M. S.; BOUTER, I.; TANGUY, A.; MORAGA, D.; AHEARN, G. A. Cellular localization of calcium, heavy metals, and metalotioneína em lagosta (*Homarus americanus*) hepatopancreas. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 136, p. 213-224, 2003.

COSTA, R. C.; FRANSOZO, A.; SCHMIDT, G. A.; FREIRE, F. A. M. 2003. Chave ilustrada para identificação dos camarões Dendrobranchiata do litoral norte do Estado de São Paulo. **Biota Neotropical**, v. 3, n. 1, p. 1-12.

CORRÊA JR., J. D.; FARINA, M.; ALLODI, S. Cytoarchitectural features of *Ucides cordatus* (Crustacea: Decapoda) hepatopancreas: structure and elemental composition of electron-dense granules. **Tissue and Cell**, v. 34, n. 5, p. 315-325, 2002.

DALL, W.; MORIATY, D. J. W. Functional aspects of nutrition and digestion: The midgut. In: BLISS, D. E.; MANTEL L. H. (Eds). **The Biology of Crustacea**. International anatomy and physiological regulation: Academic Press, 1983. p. 215-261.

GIBSON, R.; BARKER, P. L. The decapod hepatopancreas. **Oceanographic Marine Biology Annual Review**, v. 17, p. 285-346, 1979.

ICELY, J. D.; NOTT, J. A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. In: HARRISON, F. W.; HUMES, A. G. (ed.), **Microscopic Anatomy of Invertebrates**, v.10, New York: Wiley-Liss, 1992. p. 147-201.

IWAI, M. **Desenvolvimento larval e pós-larval de *Penaeus (Melicertus) paulensis* Pérez Farfante, 1967 (Crustacea: Decapoda) e o ciclo de vida dos camarões do gênero *Penaeus* da região centro-sul do Brasil**. 1978, 137p. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 1978.

LOTHHAMMER, N.; MATTE, C.; CRUZ, P. F.; SEHN, F.; FERNANDES, M. C. **Biologia Celular – Atlas Digital**. Porto Alegre: UFRGS/UFCSPA, 2009. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/biologiacelularatlas>>. Acesso em: 27 de agosto de 2011.

LOVETT, D. L.; FELDER, D. L. Ontogenetic changes in enzyme distribution and midgut function in developmental stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). **Biological Bulletin**, v. 178, p. 160-174, 1990c.

MANISSERI, M. K.; MENON, N. R. Ultrastructural aberrations in the hepatopancreas of *Metapenaeus dobsoni* (Miers) exposed to Mercury. **Journal of the Marine Biological Association India**, v. 48, n.1, p. 89-94, 2006.

PAPATHANASSIOU, E.; KING, P. E. Ultrastructural changes in hepatopancreatic cells of the prawn *Palaemon serratus* induced by exposure to acutely toxic cadmium concentrations. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 2, p. 39-47, 1986.

PAPATHANASSIOU, E.; KING, P. E. Effects of starvation on the fine structure of the hepatopancreas in the common prawn *Palaemon serratus* (Pennant). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.77, p.243-250, 1984.

PETERLE, G. T. **Aspectos morfológicos e funcionais do hepatopâncreas de camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (HELLER, 1862) (Crustacea: Penaeoidea) do litoral sul do Espírito Santo**. 2011. 51p. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil, 2011.

RIBEIRO, K. 2006. **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, São Paulo, Brasil. 98f, 2006.

ROSAS, C.; BOLONGARO-CREVENNA, A.; SÁNCHEZ, A.; GAXIOLA, G.; SOTO, L.; ESCOBAR, E. Role of digestive gland in the energetic metabolism of *Penaeus setiferus*. **Biological Bulletin**, v.189, p. 168-174, 1995.

SOUSA, L. G.; CUARTAS, E. I.; PETRIELLA, A. M. Fine structural analysis of the epithelial cells in the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Decapoda, Caridea) in intermoult. **Biocell**, v. 29, n.1 p. 25-31, 2005.

STANIER, J. E.; WOODHOUSE, M. A.; GRIFFIN, R. L. The fine structure of the hepatopancreas of *Carcinus maenas* (L.) (Decapoda, Brachyura). **Crustaceana**, v. 14, p. 56-66, 1968.

STORCH, V.; JANSSEN, H. H.; CASES, E. The effects of starvation on the hepatopancreas of the coconut crab *Birgus latro* (Crustacea, Decapoda), **Zoologischer Anzeiger**, v. 208, p. 115-123, 1982.

STORCH, V.; WELSCH, U. Elektronenmikroskopische und enzymhistochemische Untersuchungen der Mitteldarmdrüse der landlebenden Decapoden *Caenobita rugosus* und *Ocypode ceratophthalma*. **Zoologische Jahrbuecher Abteilung fuer Anatomie und Ontogenie der Tiere**, v. 97, p. 25-39, 1977.

VOGT, G. Histologie und cytology der mitteldardrüse von *Penaeus monodon* (Decapoda). **Zoologischer Anzeiger**, v. 215, p. 61-80, 1985.

VOGT, G. Life-cycle and functional cytology of the hepatopancreatic cells of *Astacus astacus* (Crustacea, Decapoda). **Zoomorphology**, v. 114, p. 83-101, 1994.

## *Capítulo 4*

---

## CAPÍTULO 4

**Níveis de metais pesados nas águas e em camarões *Xiphopenaeus kroyeri* e *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda) do litoral sul do Espírito Santo, Brasil.**

**Heavy metals levels in water and *Xiphopenaeus kroyeri* e *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda) shrimps from southern coast of Espírito Santo, Brazil.**

**AUTORES:** Erika Takagi Nunes<sup>1\*</sup>, Adriane Araújo Braga<sup>1</sup>, Maria Izabel Camargo-Mathias<sup>2</sup>

<sup>1</sup>. Departamento de Medicina Veterinária- Centro de Ciências Agrárias- Universidade Federal do Espírito Santo, Alto Universitário, s/nº, Alegre/ES, Brasil, 29500-000.

<sup>2</sup>. Departamento de Biologia, Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Av. 24A, 1515, Bela Vista, Rio Claro/SP, Brasil, 13506-765.

**\*Autora correspondente:** [erikatnunes@yahoo.com.br](mailto:erikatnunes@yahoo.com.br), Fone/FAX +55 28 3552-8666

## RESUMO

O estado do Espírito Santo (Brasil), nos últimos anos, vem sendo marcado por atividades mineradoras, principalmente próximas a regiões litorâneas e o beneficiamento desses minérios pode gerar resíduos, na maioria das vezes, descartados de forma inadequada no ambiente marinho. Sendo assim, este estudo teve por objetivo avaliar os níveis de cádmio (Cd), cobre (Cu), chumbo (Pb), cromo (Cr) e zinco (Zn) nas águas provenientes de dois diferentes pontos do litoral sul capixaba, assim como as concentrações destes elementos e do manganês (Mn) nas espécies *Xiphopenaeus kroyeri* (camarão-sete-barbas) e *Farfantepenaeus brasiliensis* (camarão-rosa), camarões peneídeos economicamente importantes, buscando identificar a presença de metais pesados em quantidade capaz de causar danos ao equilíbrio trófico e/ou riscos à saúde humana. Para tal, amostras de água e camarões-rosa e sete-barbas foram coletados em Guarapari (P1) e Maratáizes (P2), respectivamente, e processadas para a análise por espectrofotometria de absorção atômica. A sequência das concentrações médias obtidas nas águas de P1 foram  $Cd < Zn < Cu$ , não sendo detectada a presença de Pb nem Cr; já em P2,  $Cu = Zn < Cd = Cr < Pb$ . Os camarões-rosa apresentaram, em média, concentração de  $Pb < Zn < Cu$ , enquanto que sete-barbas,  $Pb < Mn < Cu < Zn$ . Não foi detectada a presença de Cd nem Cr em ambas espécies e o Mn não encontrado em *F. brasiliensis*. As águas dos dois locais apresentaram níveis de metais acima do recomendado pela legislação brasileira e ambas as espécies de camarões bioacumularam alguns elementos em altas concentrações, porém sem comprometer o seu consumo por possuírem mecanismos de detoxificação eficientes.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Xiphopenaeus kroyeri*, camarão sete-barbas, camarão-rosa, metais pesados, litoral sul do Espírito Santo.



## ABSTRACT

In recent years the state of Espírito Santo (Brazil) has been marked by mining activities, mainly near the coastal areas and the processing of these can generate waste in most of the time improperly discarded in the marine environment. Therefore, this study aimed to assess the levels of cadmium (Cd), copper (Cu), lead (Pb), chromium (Cr) and zinc (Zn) in water from two different points of the southern coast of Espírito Santo, as well as concentrations of these elements in *Xiphopenaeus kroyeri* species (seabob shrimp) and *Farfantepenaeus brasiliensis* (pink-shrimp), economically important penaeid shrimps, in order to identify the presence of heavy metals in amounts capable of causing damage to the balance trophic and/ or risks to human health. For this, samples of water and pink-shrimp and seabob shrimps were collected in Guarapari (P1) and Maratáizes (P2), respectively, and processed for analysis by atomic absorption spectrophotometry. The sequence of the average concentrations obtained in water of P1 were  $Cd < Zn < Cu$ , not being detected the presence of Pb neither Cr; in P2,  $Cu=Zn < Cd=Cr < Pb$ . The pink-shrimp showed an average concentration of  $Pb < Zn < Cu$ , while seabob shrimps,  $Pb < Mn < Cu < Zn$ . The water from the two locations showed levels of metals above recommended by Brazilian legislation and both species of shrimp bioaccumulate high concentrations of some elements, but without compromising their consumption since they possess efficient detoxification mechanisms.

**KEYWORDS:** *Farfantepenaeus brasiliensis*, *Xiphopenaeus kroyeri*, seabob shrimp, pink-shrimp, heavy metals, southern coast of Espírito Santo.

## INTRODUÇÃO

A pesca de camarões nas regiões sudeste e sul do Brasil é desenvolvida, principalmente sobre os estoques de camarão-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis* e *F. paulensis*) e de camarão sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*), espécies amplamente extraídas para o consumo humano.

O trecho sul da costa do Estado do Espírito Santo, Brasil, compreende uma área de 2.346 Km<sup>2</sup>, com litoral de 156 Km de extensão, correspondendo 38,04% da costa capixaba (410 Km) (IDES,1999). Nos últimos anos, as atividades antropológicas, juntamente com a grande expansão industrial, tem acarretado grande degradação ambiental, causando prejuízos, principalmente, nos recursos hídricos devido à geração e despejo de resíduos, comprometendo a manutenção da biodiversidade aquática bem como do próprio ser humano.

Os principais contaminantes de sistemas fluviais e marinhos são os chamados metais pesados, termo empregado com frequência para elementos como chumbo (Pb), cádmio (Cd), cromo (Cr), cobre (Cu), mercúrio (Hg), arsênio (As), níquel (Ni), zinco (Zn), entre outros, sendo sua toxicidade dependente da concentração e da sua biodisponibilidade.

Os metais pesados são introduzidos naturalmente no sistema aquático através do intemperismo e da desagregação das rochas (origem litogênica) ou ainda, por fontes antropogênicas, destacando as fontes industriais e urbanas como causa primária da poluição por metais tóxicos (LACERDA, 1998 apud TORRES, 2009).

Dentre os metais de interesse ambiental, o Cu e o Pb destacam-se por representarem problemas particulares para o ambiente aquático, visto que apresentam ao mesmo tempo toxicidade, persistência e bioacumulação na cadeia alimentar (MARCOVECCHIO, 2000 apud TORRES, 2009; MARINS et al. 2002 apud TORRES, 2009). Os efeitos dos metais pesados sobre os organismos aquáticos incluem alterações no crescimento, na reprodução e na distribuição das populações (ESTEVEES, 1998).

Segundo Rainbow (2002), todos os animais invertebrados acumulam em seus tecidos metais provenientes tanto do meio aquático como dos alimentos, sendo ou não estes essenciais para o metabolismo, entretanto, em caso de acumulação superior a estimativa teórica necessária para o corpo, têm o potencial de ser tóxico.

Um ponto a ser considerado é o potencial dos metais traço acumulados serem transferidos ao longo da cadeia alimentar. Estes não são, como regra, bioacumulados ao longo

das cadeias, sendo a concentração de cada nível trófico determinada pelo padrão de acumulação de uma espécie particular neste nível trófico (RAINBOW, 2002).

Estudos sobre biomonitoramento utilizando espécies de decápodos são raros. Martins et al. (2006) analisaram a ação de detergentes domésticos na glândula digestória, na embriogênese e na biologia reprodutiva do camarão de água doce *Macrobrachium olfersi* e demonstraram que tais produtos freqüentes nos efluentes urbanos influenciam o repertório comportamental, a reprodução e o desenvolvimento embrionário das espécies nativas de palemonídeos.

Alguns outros trabalhos relacionados à exposição de invertebrados a metais foram desenvolvidos, tais como os de Gregory et al. (2002) com *Perna perna*, de Frías-Espericueta et al. (2008, 2009) com *Litopenaeus vannamei*, Alves-Costa e Costa (2004) com *Farfantepenaeus brasiliensis* e Mantelatto et al., (1999) com *Xiphopenaeus kroyeri*. Além disto, Torreblanca et al. (1987), Patil e Kaliwal (1989) e Soegianto et al. (1999a) verificaram os efeitos histopatológicos em algumas espécies de crustáceos expostos a concentrações diferentes de chumbo, zinco e cádmio. Ruelas-Inzunza et al. (2004) também analisaram a concentração de mercúrio em hepatopâncreas, músculo e exoesqueleto de cinco espécies de peneídeos adultos (*F. californiensis*, *L. stylirostris*, *F. brevirostris*, *X. kroyeri* e *L. vannamei*) provenientes de uma região do México que recebe efluentes contaminados.

Os crustáceos têm sido, com sucesso, utilizados em estudos para indicar a exposição a contaminantes em sistemas aquáticos (FOSSI et al., 1996, 1998; GOWLAND et al., 2002; OOSTEROM et al., 2010), apontando algumas espécies indicadoras da qualidade de água e ideais para programas de monitoramento de ecossistemas.

Considerando os diversos fatores acima expostos e a carência de estudos na região litorânea do sul do Espírito Santo não só sobre a qualidade da água, como também, utilizando os decápodos no biomonitoramento, o presente trabalho buscou, por meio da espectrofotometria de absorção atômica, verificar a qualidade do ambiente por meio de análise da concentração dos níveis de metais pesados em amostras de água das regiões de Guarapari e Marataízes, litoral sul do Espírito Santo, Brasil, bem como em duas espécies de camarões peneídeos comercialmente importantes: camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) e camarão-rosa (*Farfantepenaeus brasiliensis*), para avaliar sua capacidade de bioacumulação e os riscos para a saúde de seus consumidores.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta dos camarões e avaliação da concentração biológica de metais pesados

As coletas dos camarões *Farfantepenaeus brasiliensis* e *Xiphopenaeus kroyeri* foram realizadas nos meses de agosto e fevereiro de 2009, respectivamente, em Guarapari (P1) (S20°41'259") e Marataízes (P2) (S20°59'377"), pontos estes localizados no litoral sul do Espírito Santo (Fig. 1). Para tal utilizou-se uma embarcação modelo saveiro médio equipada com rede de arrasto do tipo "otter trawl" que percorreu uma extensão de aproximadamente dois quilômetros e com duração de cerca de 30 minutos cada arrasto.

Após triagem, alguns exemplares foram acondicionados em sacos plásticos, etiquetados para serem transportados em caixa de isopor contendo gelo picado. Posteriormente, foram levados para o Laboratório de Análise Mineralógica do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa- UFV, MG, Brasil, para análise sob Espectrofotometria de Absorção Atômica por Chama (FAAS).

No laboratório, 15 camarões inteiros de *F. brasiliensis* e 25 de *X. kroyeri* foram divididos em 5 subamostras, sendo cada uma submetida à secagem em estufas de circulação forçada, durante 72 horas, à temperatura de 68-72°C. A seguir, as amostras foram pesadas em balanças de precisão, moídas em moinho de facas de aço inox para homogeneização.

Posteriormente, 0,5 g de cada subamostra foi submetida à digestão ácida por 10 mL da mistura de ácido nítrico e ácido perclórico na proporção 4:1, para determinação dos teores de Mn, Zn, Cu, Cr, Cd e Pb. Posteriormente, as amostras foram deixadas sobre chapa quente pré-aquecida à 80°C, até atingir, gradativamente, 200°C, sendo após o esfriamento, completado o volume para 25 mL com água deionizada.

As amostras padrões utilizadas para calibração deste equipamento foram produzidas a partir de soluções estoques com concentrações da ordem de 1000 ( $\pm 0.3\%$ ) ppm, sendo, posteriormente, realizada a leitura da concentração de cada um dos elementos.

### Coleta e avaliação da contaminação química da água por metais pesados

As amostras de água foram obtidas em cada transecto utilizando-se uma garrafa de Van Dorn, sendo a coleta e preservação das amostras realizadas de acordo com a

recomendação do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo (2008), para verificação da presença de metais pesados. Posteriormente, foram preservadas em  $\text{HNO}_3$  com pH de aproximadamente 2 e mantidas em garrafas plásticas tipo PET de 2000mL, sob refrigeração à 4°C. A verificação dos níveis de metais pesados (Cu, Zn, Cd, Cr e Pb) sob Absorção Atômica GBC 932B Plus foi realizada no Centro de Pesquisas de Águas subterrâneas (CEPAS) do Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo (USP), SP, Brasil. A leitura de cada amostra de água foi realizada em triplicata, sendo determinada a média das leituras.

A comparação entre os níveis de metais pesados encontrados nas amostras de água das duas localidades, assim como entre estas e os camarões provenientes de cada ponto, foi realizada mediante ao teste F, completada com o teste T, ao nível de significância de 5% de probabilidade ( $\alpha=0.05$ ) (ZAR, 1996). As médias dos elementos analisados (Zn, Cu e Pb) foram transformados em  $\ln(x+1)$  para homocedasticidade dos dados.



**Figura 1.** Pontos de coleta no litoral sul do Espírito Santo, Brasil. (Guarapari –P1 e Marataízes – P2).

## RESULTADOS

Nas análises da presença de metais pesados nos indivíduos *F. brasiliensis* bem como *X. kroyeri* não foram detectadas a presença de cromo e cádmio, enquanto os níveis de cobre, manganês, zinco e chumbo mostraram-se elevados (Tabela 1).

Observa-se, na figura 2, que não houve diferença significativa entre os níveis dos metais pesados analisados para as duas espécies, excetuando-se para o manganês que não foi detectado em *F. brasiliensis*, porém esteve presente em *X. kroyeri*, em concentração média de 6.87ppm (Tabela 1).

O resultado da análise por espectrofotometria indicou, ainda, a presença de cobre, chumbo, cádmio, cromo e zinco nas amostras de água coletadas em Marataízes, enquanto naquelas de Guarapari, não foram detectados o chumbo nem o cromo, podendo se observar uma diferença estatística dos níveis de metais pesados encontrados nas duas regiões ( $p > 0,05$ ) (Figura 2).

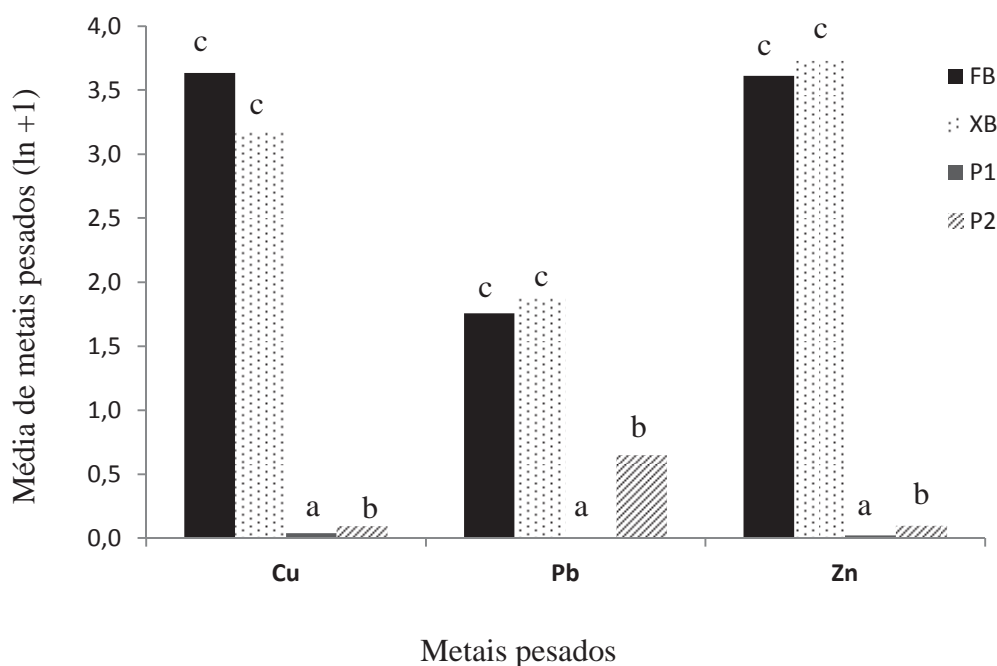
Comparando-se os valores médios, em ppm, encontrados nas amostras de água e nos indivíduos estudados, verificam-se concentrações significativamente maiores nos camarões, indicando que ocorre a acumulação destes elementos por estas espécies.

**Tabela 1.** Valores médios (ppm) e desvio padrão referentes às concentrações de metais pesados encontrados nos camarões *F. brasiliensis* e *X. kroyeri* e nas águas dos pontos de coleta amostrados.

Subamostra	Cr (ppm)	Cd (ppm)	Cu (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	Pb (ppm)
<i>F. brasiliensis</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	36,69 ± 15,98	0,00±0,00	35,98±4,83	4,80 ±4,90
Guarapari (P1)	0,00±0,00	0,009±0,0	0,04±0,01	-	0,02±0,007	0,00 ±0,00
<i>X. kroyeri</i>	0,00±0,00	0,00±0,00	22,83±1,67	6,87±2,25	40,65±2,44	5,51±3,93
Marataízes (P2)	0,13±0,013	0,13 ±0,05	0,1±0,007	-	0,1±0,004	0,91±0,02

(-) elemento não analisado





**Figura 2.** Valores médios (ppm) referentes às concentrações de metais pesados encontrados nas duas espécies de camarões e nas águas dos pontos de coleta amostrados. (FB- *F. brasiliensis*; XK- *X. kroyeri*; P1- Guarapari; P2 -Marataízes). Média com letras iguais não diferem entre si pelo teste T, para  $\alpha = 0,05$ .

Os apêndices A e B apresentam, respectivamente, os valores absolutos obtidos para as concentrações de cada um dos metais analisados, em cada subamostra dos camarões-rosa e camarões-sete-barbas, bem como as concentrações médias e desvios-padrão referentes.

## DISCUSSÃO

Os metais pesados como cádmio, chumbo, zinco, níquel, cobre e cromo III ou seus componentes são, geralmente, usados em processos químicos industriais, em revestimentos ou em mineração (GONÇALVES, 2008). Sendo assim, além dos metais traço, componentes naturais presentes no ambiente em baixas concentrações, uma variedade de elementos de origem antropogênica podem ser encontrados nos sistemas aquáticos afetando o crescimento, reprodução e desenvolvimento dos seres vivos. Neste sentido, animais têm sido estudados na tentativa de se descobrir espécies bioindicadoras de condições ambientais.

Segundo o Conselho Nacional do Meio Ambiente- CONAMA (2005), o teor máximo de cobre e cádmio dissolvido na água salina deve ser 0.005mg/L, enquanto de cromo total, zinco e chumbo, 0.05mg/L, 0.09mg/L e 0.01mg/L, respectivamente. Os resultados obtidos na água de Guarapari mostraram que o cobre e cádmio aparecem em concentrações superiores aos limites recomendados, enquanto em Maratáizes todos os elementos analisados estiveram em quantidades elevadas, região essa, localizada mais ao sul do litoral capixaba e, provavelmente, a mais afetada devido à proximidade aos principais locais de despejos das atividades urbanas e industriais.

Apesar disto, elementos como o Zn, Cu e Pb presentes nas amostras de água estiveram em níveis relativamente baixos quando comparados aos teores encontrados nos camarões provenientes dos pontos de coleta correspondentes. Isso pode estar relacionado com o fato de que quase 100% dos metais pesados encontram-se associados a particulados, especialmente aos sedimentos, ou seja, poucos metais encontram-se totalmente solubilizados na água (ZAGATTO; BERTORETTI, 2006), sendo estes a principal fonte dos metais acumulados nos camarões.

Jackson et al. (2005) apud Alves-Costa e Costa (2004) afirmaram que é geralmente encontrada uma alta concentração de Mn nos crustáceos devido à ingestão de sedimento. Neste sentido, Rainbow (1988) observou cerca de 5-50 µg/g deste elemento na espécie *Systemaspis debilis* enquanto neste trabalho, encontrou-se 6.87mg/kg, para o camarão sete-barbas *X. kroyeri*. Esta diferença na acumulação de elementos entre estas espécies de decápodos pode ser justificada pelos hábitos alimentares, uma vez que, os camarões sete-barbas por serem consumidores de detritos de fundo lodosos (BRANCO; MORITZ JR., 2001) podem apresentar concentrações não recomendadas de metais pesados, além disso, esta espécie apresenta o hábito de se enterrar (FREIRE et al. 2011), o que provavelmente ocasiona uma maior concentração de metais pesados em sua carcaça, diferentemente do encontrado em *F. brasiliensis*, onde não foi detectada a presença deste elemento, provavelmente relacionado ao fato deste camarão viver próximo a cascalhos.

Similarmente, Alves-Costa e Costa (2004) estudando *F. brasiliensis* juvenis coletados em Ubatuba/SP, encontraram baixas concentrações de metais na carcaça, sendo justificado pelos autores, por ser esta espécie, nesta fase, normalmente encontrada em ambiente estuarino e em associação com algas e/ou gramíneas, uma vez que se alimentam de pequenos organismos ali associados. Entretanto, Ruelas-Inzunza et al. (2004) verificando a presença de Hg em cinco outras espécies de peneídeos adultos apontaram que aquelas com hábitos estuarinos, como o camarão-branco (*Litopenaeus vannamei*) e o camarão-azul (*L. stylirostris*),

estão em contato com níveis mais elevados de contaminantes e, conseqüentemente, devem apresentar maiores concentrações destes.

Nunes-Nogueira et al. (2006) inferem que seja altamente provável que a assimilação de certos metais como o Zn e Cd ocorra a partir de alimentos, desempenhando um papel importante no corpo de *Penaeus indicus*, particularmente nos estágios estuarinos do ciclo de vida. Segundo estes autores, os estuários, que são particularmente propensos à poluição por metais, podem oferecer dietas ricas em metal, como aquelas derivadas de algas verdes macrófitas, ou ainda, os camarões podem adquirir-los dos tecidos musculares de cefalópoda. Sendo assim, Brouwer e Lee (2007) afirmam que os xenobióticos podem ser obtidos a partir da água, sedimento ou alimento, via brânquias ou estômago, e acumular no hepatopâncreas, para daí ser excretado ou acumulado nos músculos ou tecidos gonadais e nervosos.

Mantelatto et al. (1999) estudaram a concentração de Cd, Cr, Pb, Cu e Zn em *X. kroyeri* da enseada de Ubatuba, SP, Brasil, e verificaram relação entre a concentração de metal pesado, a sazonalidade e o peso corpóreo de machos e fêmeas. Estes autores apontaram que Zn, Cu e Pb foram os elementos mais abundantes nos exemplares estudados enquanto Cd e Cr os menos abundantes, durante todo o ano, como aqui observado nesta mesma espécie e em *F. brasiliensis*. Já Nimmo et al. (1977), ao contrário, encontraram acúmulo significativo de Cd no hepatopâncreas dos camarões *P. suorarum*, *Palaemonetes pugio* e *Palaemon vulgaris*, assim como Manuela et al. (2003), no caranguejo de água doce *Potamonautes warreni*. Estes últimos autores apontaram que as concentrações elevadas de cádmio foram as responsáveis por alterações celulares no hepatopâncreas, como também observado nas células F e R de *Palaemon serratus* por Papathanassiou e King (1986).

Virga et al. (2007), realizando medidas dos teores de Pb, Cd, Cr, Cu e Zn nas partes moles de siris azuis, encontraram o Cr em níveis elevados, enquanto todos os demais elementos tiveram seus valores médios abaixo dos estabelecidos para alimentos pela legislação brasileira, considerando-os como não-contaminados e apropriados para o consumo. Estas elevadas concentrações de metais como o cromo, cádmio e chumbo em ecossistemas marinhos não só oferecem riscos aos animais lá viventes, como também aos consumidores desses organismos, incluindo humanos, visto que os camarões ocupam um nível final da cadeia alimentar, sendo importantes acumuladores de metais. Segundo as recomendações da legislação brasileira (BRASIL, 1998), o limite máximo em alimentos é 2 ppm para o chumbo, 1 para o cádmio e 0.1 para o cromo total. Já White e Rainbow (1982) afirmaram que, para Decapoda, foi determinada a concentração de cádmio equivalente a 1-2 ppm de peso fresco.

Neste estudo, a média de concentração do Pb em *F. brasiliensis* e *X. kroyeri* esteve acima dos valores recomendados (4.8mg/Kg e 5.51mg/Kg, respectivamente), enquanto o Cd e Cr, ainda que detectados nas águas de Marataízes, estiveram ausentes nos camarões de ambas as espécies. Considerando que o hepatopâncreas dos camarões peneídeos é um alvo para acumulação de metais (RUELAS-INZUNZA et al., 2004), que geralmente é descartado e que a concentração aqui encontrada refere-se à análise do espécimen inteiro, o teor de Pb não oferece riscos a seus consumidores. De maneira semelhante, Frías-Espéricueta et al. (2009) verificaram o conteúdo de alguns destes metais pesados (Zn, Cd, Cu e Pb) tanto no hepatopâncreas como nos músculos de *L. vannamei* e afirmaram que, ainda que as concentrações principalmente de Zn fossem maiores no hepatopâncreas, o consumo destes camarões de Sinaloa, México, não ofereceriam riscos à saúde humana.

Já a ausência de Cd e Cr nos espécimens vivos em águas contaminadas por estes elementos apontou para a possibilidade destes serem detoxificados e/ou excretados, ainda que Rainbow (1985) afirme que nenhum Crustacea é capaz de regular a concentração de metais não-essenciais como o cádmio.

Ao contrário, os decápodos têm a habilidade de regular a concentração dos metais ditos essenciais como o Zn e o Cu, porém esta característica não se estende aos outros crustáceos (RAINBOW, 1985). Em camarões, o Zn geralmente apresenta-se em concentração de 50-120µg/g do peso seco, sendo adquirido em taxas crescentes durante a exposição e o excesso eliminado pela excreção (RAINBOW, 1988). Nos espécimens de *F. brasiliensis* aqui estudados, o teor médio de Zn foi de 35.98 mg/kg, enquanto naqueles *X. kroyeri*, este elemento, como sendo o de taxa mais elevada, esteve presente em níveis de 38 a 43.5 mg/kg; portanto, dentro dos 50ppm permitidos para consumo pela FAO/WHO (1997). Mantelatto et al. (1999) verificaram, em indivíduos maduros e em fase de intermuda desta última espécie, 25 a 171 µg/g de Zn e associaram estes níveis com a atividade de aproximadamente 100 enzimas envolvidas no metabolismo de lipídios, proteínas, carboidratos e ácido nucléico (ELINDER, 1986).

Já o Cu, nos camarões adultos de *F. brasiliensis*, apresentou a maior concentração média (36.69 mg/kg) e, em *X. kroyeri*, foi o segundo elemento mais abundante (22.83 mg/kg). Esta grande quantidade justifica-se pela importância deste elemento para as atividades da maioria das enzimas relacionadas ao crescimento e ao desenvolvimento dos crustáceos. Além disto, de acordo com WHO (1992) e com Páez-Osuna et al. (1995), os crustáceos e moluscos possuem hemocianina, pigmento respiratório presente em grande quantidade nas brânquias e

que contém Cu como seu principal carregador de oxigênio, portanto, concentrações notórias desse metal podem ser resultantes, em parte, dessa capacidade de se ligar à hemocianina.

Considerando estas afirmações e que o limite de Cu em alimentos determinado pela legislação brasileira (BRASIL, 1998, apud VIRGA et al., 2007), assim como pelas normas internacionais (FAO/WHO, 1997 apud VIRGA et al., 2007), é de 30ppm, os teores encontrados nos espécimens de ambas espécies de peneídeos estudadas, de maneira geral, não oferecem risco à população, podendo ser consumidos por estarem dentro da média permitida. Entretanto, é tóxico quando em excesso e afeta muitas funções em nível molecular e celular, causando danos a organelas como mitocôndria, retículo endoplasmático e membrana nuclear (YANG et al., 2008).

Apesar de, no presente estudo, apenas as fêmeas terem sido analisadas, Mantelatto et al. (1999) encontraram diferenças nos níveis de Cu entre os sexos de *X. kroyeri*, sendo as mais elevadas concentrações detectadas em fêmeas e associaram ao fato destas, durante o desenvolvimento de suas gônadas, apresentarem metabolismo acelerado promovendo a somatização da absorção deste metal. Neste sentido, outros trabalhos com peneídeos também apontaram níveis diferentes de metais entre indivíduos de sexo oposto, relacionando isso ao processo de gametogênese ou às taxas de crescimento (PÁEZ-OSUNA; RUIZ-FERNÁNDEZ, 1995a; PÁEZ-OSUNA; TRON-MAYEN, 1996).

Já Rainbow (1988) observou diferenças na concentração deste elemento entre indivíduos jovens e adultos de *S. debilis*, sendo, encontrados aproximadamente 30µg/g e 100µg/g, respectivamente. Alves-Costa e Costa, em 2004, estudando juvenis da espécie *F. brasiliensis* da enseada de Ubatuba, Ubatuba/SP, Brasil, encontraram concentrações dos metais Cd, Zn, Mn e Cu abaixo das concentrações letais e toleráveis pré-estabelecidas e sugeriram uma possível relação com a fase de vida destes animais. Segundo estes mesmos autores, Mantelatto et al. (1999) e Jeckel et al (1996) já afirmaram que a concentração de cobre aumenta proporcionalmente à maturação gonadal.

Embora o cobre, zinco, manganês, ferro, magnésio, cobalto, molibdênio e boro sejam essenciais para os seres vivos (ANDRADE, 2003; ESTEVES, 1998), Pais e Jones (1997) e Esteves (1998) afirmaram que concentrações elevadas de boro, cobre, manganês e zinco podem causar sérios danos aos organismos vegetais e animais. Isto foi comprovado por Frías-Espéricueta et al. (2008) que verificaram em seus estudos com juvenis de *L. vannamei*, alterações histológicas quando estes eram expostos a diferentes teores de Cu. Esses autores apontaram que as concentrações elevadas desse metal são tóxicas para os camarões, causando danos estruturais como necroses nas brânquias e no hepatopâncreas, infiltração de hemócitos

nos tecidos branquiais e alterações no epitélio hepatopancreático. Entretanto, apesar das fêmeas de *F. brasiliensis* terem apresentado Cu em taxas elevadas, estas alterações no tecido hepatopancreático não foram observadas (NUNES, informação pessoal).

De acordo com Ceccaldi (1989), as células F imaturas do hepatopâncreas são caracterizadas pela presença de vacúolos que formarão, progressivamente, uma inclusão supranuclear contendo metais como o cobre, zinco e enxofre, entretanto, Ramos e Tremacoldi (2006) não observaram reação positiva ao teste histoquímico de Mallory-Parker (detecção de chumbo e enxofre) no hepatopâncreas do camarão de água doce *Macrobrachium acanthurus* do Rio Cachoeira, sul da Bahia, Brasil. Segundo Coutinho (2008), o hepatopâncreas sempre apresenta altas concentrações de contaminantes por possuir função de fígado, estômago e intestino e ainda ser o primeiro órgão a ser exposto a quaisquer substâncias obtidas pela dieta.

Apesar de alguns trabalhos da literatura apontarem que o hepatopâncreas é um órgão que reage a mudanças ambientais, alterando sua morfologia (FRÍAS-ESPERICUETA et al., 2008; SOUSA; PETRIELLA, 2007; ABDELMEGUID et al., 2009), outros como os de Severo (1999) e Corrêa Jr et al. (2002) mostram ausência de alterações celulares e teciduais neste órgão de animais submetidos à ação de poluentes. Assim, Severo (1999) levantou a hipótese de que os crustáceos possuem um sistema de auto-regulação, promovendo uma relação de equilíbrio com o ambiente. Além disto, Corrêa Jr. et al. (2002), apontaram o hepatopâncreas, como órgão que apresenta uma elevada taxa de renovação celular, minimizando os efeitos negativos da exposição a substâncias nocivas.

A concentração dos metais pesados encontradas nas duas localidades de coleta deste estudo, apesar de significativa, não influenciaram na sanidade destas espécies de camarões, mostrando que estes desenvolveram mecanismos eficientes de detoxificação, possivelmente, desempenhado pelo hepatopâncreas. Entretanto, diante do acima exposto, a literatura aponta a possibilidade de haver variações quanto à sensibilidade e resistência das diferentes espécies animais e populações a esses metais, ou mesmo, em relação ao tamanho, hábitos alimentares e de vida, sexo e os estágios de muda e de reprodução, visto que, segundo Rainbow (1990), as taxas de absorção e excreção são afetadas pelas características biológicas dos organismos. Além disto, Nendza et al. (1997) apud Virga et al. (2007) sugerem que a variabilidade intra-específica pode ocorrer em função da localidade, exposição a contaminantes e resposta individual para a detoxificação.

Assim, o presente trabalho demonstrou que os espécimens de *F. brasiliensis* e *X. kroyeri* aqui estudados, vivendo em ambiente aquático com a presença de metais pesados, acumularam estes elementos, muitas vezes, em níveis mais elevados devido aos seus hábitos



bentônicos, porém, sem afetar seus consumidores, visto que as concentrações estão de acordo com os valores máximos recomendados pelas principais organizações de saúde (BRASIL, 1998; FAO/WHO, 1997).

As trocas experimentais entre siri-azul *Callinectes sapidus* provenientes de um local contaminado com outros de ambiente limpo mostraram que esta não é uma espécie biondicadora de poluição muito confiável, por ter sido observado aumento (Cu, Hg, Zn) ou diminuição dos elementos (Cu e Zn) entre os tratamentos, mas com diferenças muito sutis para outros metais (Cr, Pb), não permitindo assim, o estabelecimento de um padrão (REICHMUTH et al., 2010).

Um monitoramento, em laboratório, para o acompanhamento das variações na acumulação de metais pesados de acordo com os estágios de muda, reprodução, alimentação e concentração de contaminantes, em diferentes órgãos, auxiliaria no melhor entendimento das reações metabólicas envolvidas nestes animais e possivelmente, auxiliariam em futuros estudos sobre monitoramento ambiental, principalmente nesta região do litoral sul capixaba.

## AGRADECIMENTOS

Ao Centro de Pesquisas de Águas Subterrâneas (CEPAS) do Instituto de Geociências da Universidade de São Paulo (USP) e ao Laboratório de Análise Mineralógica do Departamento de Solos da Universidade Federal de Viçosa (UFV), pelas análises espectrofotométricas. Também ao trabalho técnico de Lucia Helena (CEPAS) e José Francisco Dias (UFV), bem como ao Fernando Saraiva e Diego Della Lucia pela viabilização da realização deste estudo. À Profa. Dra Juliana Di Giorgio Giannotti pelo auxílio na análise estatística.

## REFERÊNCIAS

- ABDELMEGUID, N. E.; AWAD, H. E.; IBRAHIM, A. M.; YOUSEF, N. A. Ultrastructural changes in hepatopancreas of *Palaemon serratus*, following treatment with petroleum carcinogenic compounds. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 8, n. 6, p. 770-781, 2009.
- ALVES-COSTA, F. A.; DA COSTA, R. C. Níveis de metais pesados no camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda) na enseada de Ubatuba, Ubatuba, São Paulo. **Revista Biociências**, v.10, n. 4, p. 199-203, 2004.
- ANDRADE, C. F. F. D. **Uma Introdução à Bioinorgânica**. Instituto de Química e Geociências. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2003. 46 p.

BRANCO, J. O.; MORITZ JR., H. C. Alimentação natural do camarão sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (Crustacea, Decapoda), na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 1, p. 53 – 61, 2001.

BRASIL, Portaria nº. 685/98. Aprova o Regulamento Técnico: “**Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos**” e seu Anexo: “Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos”, complementa e faz algumas modificações no Decreto Lei nº 55.871, de 26 de março de 1965. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685\\_98.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm)>, acesso em: 22 de junho de 2011.

BROUWER, M.; LEE, R. F. Responses to toxic chemicals at the molecular, cellular, tissue, and organismal level. In: **The Blue Crab *Callinectes sapidus***. KENNEDY, V. S.; CRONIN, L. E. (Eds). Maryland Sea Grant College, College Park, Maryland, 2007. p.485-512.

CECCALDI, H. J. 1989. Anatomy and physiology of digestive tract of Crustaceans decapods reared in aquaculture. **Advances in Tropical Aquaculture**, v. 9, p. 243-259.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA N° 357/17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: agosto, 2011.

CORRÊA JR., J. D.; FARINA, M.; ALLODI, S. Cytoarchitectural features of *Ucides cordatus* (Crustacea: Decapoda) hepatopancreas: structure and elemental composition of electron-dense granules. **Tissue and Cell**, v. 34, n. 5, p. 315-325, 2002.

COUTINHO, D. A. **Aspectos da toxicocinética do mercúrio em camarões de cultivo *Litopenaeus vannamei* (Bonne, 1931)**. 2008. 120p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio de Janeiro-IBCCF, Rio de Janeiro, 2008.

ELINDER, C. G. Zinc. In: FRIBERG, L.; NORDBERG, G. F.; VOUK, V. B (ed.). **Handbook on the toxicology of metals: Specific metals**. Amsterdam: Elsevier, 1986. v. 2, p. 664-679.

ESTEVES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602p.

FAO/WHO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Food consumption and exposure assessment of chemicals. Report of a FAO/WHO consultation**. Geneva: Switzerland, 1997.

FOSSI, M. C.; CASINI, S.; SAVELLI, C.; LARI, L.; CORSI, I.; SANCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; MATTEI, N.; FRANCHI, E.; DEPLEDGE, M. H.; MAMBER, S. Multi-trial biomarker approach using *Carcinus aestuarii* to evaluate toxicological risk due Mediterranean contaminants fields and experimental studies. **Freshwater Environmental Bulletin**, v.5, p. 706-711, 1996.

FREIRE, F. A. M.; LUCHIARI, A. C.; FRANSOZO, V. Environmental substrate selection and daily habitual activity in *Xiphopenaeus kroyeri* shrimp (Heller, 1862) (Crustacea, Peneaeoidea). **Indian Journal of Geo-Marine Science**, v. 40, n. 3, p. 325-330, 2011.

FRÍAS, ESPERICUETA, M. G.; CASTRO-LONGORIA, R.; BARRÓN-GALLARDO, G. J.; OSUNA-LÓPEZ, J. I.; ABAD-ROSALES, S. M.; PÁEZ-OSUNA, F.; VOLTOLINA, D. Histological changes and survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles with different copper concentrations. **Aquaculture**, v. 278, p. 97–100, 2008.

FRÍAS-ESPERICUETA, M. G.; OSUNA-LÓPEZ, J. I.; VOLTOLINA, D.; BELTRÁN-VELARDE, M. A.; IZAGUIRRE-FIERRO, G.; LÓPEZ-LÓPEZ, G.; MUY-RANGEL, M.; RUBIO-CARRASCO, W. The contents of Cd, Cu, Pb and Zn of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) of six coastal lagoons of Sinaloa, NW Mexico. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 44, n. 1, p. 197-201, 2009.

GONÇALVES, M. F. **Variação temporal e espacial da presença dos metais pesados (Cd, Cr, Ni, Pb, Zn) na bacia do Rio Barigüi e identificação de suas fontes potenciais.** 2008. 152f. (Dissertação), Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

GOWLAND, B. T. G.; NOFFAT, C. F.; STAGG, R. M.; HOULIHAN, D. F.; DAVIES, I. M. Cypermethrin induces glutathione-S-transferase activity in the shore crab, *Carcinus maenas*. **Marine Environmental Research**, v.54, p.167-177, 2002.

GREGORY, M.A.; MARSHAL, D.J.; GEORGE, R.C.; ANANDRAJ, A.; MCCLURG, T.P. Correlations between metal uptake in the soft tissue of *Perna perna* and gill filament pathology after exposure to mercury. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 45, p. 114-125, 2002.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). 2008. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos.** 4ª. ed. (1ª. ed. digital). ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (coord.). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.

INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO DO ESPÍRITO SANTO - IDES. Fundamentos para a elaboração do Plano de Ordenamento Territorial Integrado do Litoral Sul do Espírito Santo. Vitória, 1999.

JECKEL, W. H.; ROTH, R. R.; RICCI, L. Patterns of trace metals distribution in tissues of *Pleoticus muelleri* (Crustacea: Decapoda: Solenoceridae). **Marine Biology**, v. 125, p. 297-306, 1996.

MANTELATTO, F. L. M.; AVELAR, W. E. P.; SILVA, D. M. L.; TOMAZELLI, A. C.; LOPEZ, J. L. C.; SHUHAMA, T. Heavy metals in the shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Penaeidae) from Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil. **Bulletin of Environment Contamination and Toxicology**, v. 62, p. 152-159, 1999.

MANUELA, P.; SCHUWERACK, M.; LEWIS, J. W. The mode of action of acute and chronic concentrations of waterborne Cd in the digestive gland of the acclimated infested freshwater crab (*Potamonautes warreni*). **Cell Tissue Research**, v. 312, p. 249–263, 2003.

MARTINS, L. C.; DA ROSA, R. D.; RIVERO L. D.; NAZARI, E. M.; MÜLLER, Y. M. R.. Ação de detergente doméstico na Biologia Reprodutiva do Camarão de Água Doce *acrobrachium olfersi*. **Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 1, p. 79-82, 2006.

NIMMO, R. D. W.; LIGHTNER, V. D.; BAHNER, H. L. Effects of cadmium on the shrimps, *Penaeus duorarum*, *Palaemonetes pugio* and *Palaemonetes vulgaris*. In: VERNBERG, F. J.; CALABRESE, A.; THURBERG, F. P.; VERNBERG, W. D. (Eds). **Physiological responses of marine invertebrates to pollutants**. New York: Academic Press, 1977. p.131-138.

NUNEZ-NOGUEIRA, G. ; RAINBOW, P. S.; SMITH, B. D. Assimilation efficiency of zinc and cadmium in the decapod crustacean *Penaeus indicus*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 332, p. 75–83, 2006.

OOSTEROM, J. V.; KING, S, C.; NEGRI, A.; HUMPHREY, C.; MONDON, J. Investigation of the mud crab (*Scylla serrate*) as a potential bio-monitoring species for tropical coastal marine environments of Australia. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 283-290, 2010.

PÁEZ-OSUNA, F.; PÉREZ-GONZALEZ, R.; IZAGUIRRE-FIERRO, G.; ZAZUETA-PADILLA, H. M.; FLORES-CAMPAÑA, L. M. Trace metals concentration and their distribution in the lobster *Panulirus inflatus* (Bouvier, 1895) from the mexican pacific coast. **Environmental Pollution**, v. 90, p. 163-170, 1995.

PÁEZ-OSUNA, F; TRON-MAYEN, L. Concentration and distribution of heavy metals in tissues of wild and farmed shrimp *Penaeus vannamei* from the northwest coast of Mexico, **Environment International**, v. 4, p. 443-450, 1996.

PÁEZ-OSUNA, F.; RUIZ-FERNANDEZ, C. Trace metals in the Mexican shrimp *Penaeus vannamei* from estuarine and marine environments. **Environmental Pollution**, v. 87, p. 243-247, 1995.

PAIS, I.; JONES, J. B. **The Handbook of Trace Elements**. Delray Beach, FL: St. Lucie Press, 1997. 240p.

PAPATHANASSIOU, E.; KING, P. E. Ultrastructural changes in hepatopancreatic cells of the prawn *Palaemon serratus* induced by exposure to acutely toxic cadmium concentrations. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 2, p. 39-47, 1986.

PATIL, H. S.; KALIWAL, M. B. Histopathological effects of zinc on the gills of prawn *Macrobrachium hendersodyanum*. **Zeitschrift fuer Angewandte Zoologia**, v.76, p. 505–510, 1989.

RAINBOW, P. S. The biology of heavy metals in the sea. **International Journal of Environmental Studies**, v. 25, p.195-211, 1985.

RAINBOW, P. S. The significance of trace metals concentration in decapods. **Symposia of the Zoological Society of London**, v. 19, p. 291-313, 1988.

RAINBOW, P. S. Heavy metals in marine invertebrates. In: FURNESS, R. W.; RAINBOW, P.S. (eds). **Heavy metals in Marine Environment**. Florida: CRC Press, 1990. p.67-79.

RAINBOW, P. S. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? **Environmental Pollution**, v. 120, p. 497-507, 2002.

RAMOS A. P. S.; TREMACOLDI, A. C. Z. **Análise histoquímica do hepatopâncreas do camarão de água doce *Macrobrachium acanthurus* do Rio Cachoeira, sul da Bahia.** In: Anais do XII Seminário de Iniciação Científica da UESC, Santa Cruz, 2006.

REICHMUTH, J. M.; WEIS, P.; WEIS, J. S. Bioaccumulation and depuration of metals in blue crabs (*Callinectes sapidus* Rathbun) from a contaminated and clean estuary **Environmental Pollution**, v. 158, n.2, p.361-368, 2010.

RUELAS-INZUNZA, S. B.; GARCIA-ROSALES, F.; PÁEZ-OSUNA. Distribution of mercury in adult penaeid shrimps from Altata-Ensenada del Pabellon lagoon (SE Gulf of California). **Chemosphere**, v. 57, p. 1657–1661, 2004.

SEVERO, M. I. G. **Etude de l'impact toxicologique des polluants minéraux (Cu, Cr) engendré par des rejets sur les crustacés de l'état de Bahia - Brésil.** 1999. 151f. These (Doctorat em Sciences) – Université de Reims Champagne – Ardenne. Soutenue le Février, 1999.

SOEGIANTO, A.; CHARMANTIER-DAURES, M.; TRILLES, J. P.; CHARMANTIER, G. Impact of cadmium on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penaeus japonicus* (Decapoda). **Aquatic Living Resources**, Elsevier: Paris, v. 12, n. I, p. 57-70, 1999a.

SOUSA, L. G.; PETRIELLA, A. M. Functional morphology of the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Decapoda): influence of environmental pollution. **Revista de Biología Tropical**, v. 55, p. 79-86, 2007.

TORREBLANCA, A.; DIAZ-MAYANS, J.; DEL RAMO, J.; NUNEZ, A. Oxygen uptake and gill morphological alterations in *Procambarus clarkii* (Girard) after sublethal exposure to lead. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C 86, p. 219–224, 1987.

TORRES, R. F. **Disponibilidade dos metais cobre e chumbo em um canal de maré receptor de efluentes de carcinicultura.** 2009. 134f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Fortaleza, 2009.

VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 779-785, 2007.

WHITE, S. L.; RAINBOW, P. S. Regulation and accumulation of copper, zinc and cadmium by the shrimp *Palaemon elegans*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 8, p. 95-101, 1982.

WHO– World Health Organization. International Programme on Chemical Safety. **Environmental Health Criteria**, 1992.

YANG, Z. B.; ZHAO, Y. L.; LI, N.; YANG, J.; HUA, X. G. Effect of waterborne copper on the Y-organ and content of 20-hydroxyecdysone in *Eriocheir sinensis*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 54, p. 69-74, 2008.

ZAGATTO, P.A., BERTORETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações.** São Carlos: Editora RIMA, 2006. 464p.

*Discussão geral*

---



## V. DISCUSSÃO GERAL

O hepatopâncreas dos Crustacea é um órgão que desempenha funções essenciais na sobrevivência e no sucesso evolutivo destes animais. Considerando sua complexidade, raros trabalhos foram até agora desenvolvidos descrevendo as alterações morfológicas que ocorrem neste órgão de camarões peneídeos, principalmente com relação a sua participação no desenvolvimento gonadal.

O presente estudo trouxe informações inéditas, em nível de microscopias de luz e eletrônica, sobre o hepatopâncreas do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* proveniente de fêmeas em dois diferentes estágios de desenvolvimento das gonadal, mostrando que este é um órgão complexo que sofre modificações durante não só o período de reprodução, mas também pode ser fortemente influenciado pelos estágios de muda, de alimentação e pelas condições ambientais.

A microscopia eletrônica de varredura demonstrou que o hepatopâncreas desta espécie é um órgão maciço, confirmando a ocorrência de variações entre as espécies de crustáceos quanto à lobação (ICELY; NOTT, 1992), quando comparado com trabalhos descritos na literatura para outras espécies de peneídeos (VOGT, 1985; LOVETT; FIEDLER, 1989; PETERLE, 2011) e carídeos (PILLAI, 1992; FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009).

Desta forma, a ultramorfolgia mostrou ser uma importante ferramenta para estudos sobre esta glândula digestiva e suas implicações filogenéticas. Apesar das diferenças interespecíficas, este órgão, no presente estudo, não apresentou alterações ultramorfológicas significativas quando provenientes de fêmeas em distintas fases do desenvolvimento das gônadas, semelhantemente ao encontrado por Hasek e Felder (2005) que também não registraram diminuição mensurável na massa hepatopancreática durante o desenvolvimento ovariano de *Armases cinereum* e *Sesarma reticulatum*.

Diferentes tipos celulares são encontrados no hepatopâncreas de crustáceos, incluindo as células E, F, R e B (HIRSH; JACOBS, 1928; ROBINSON; DILLAMAN, 1985; AL-MOHANNA; NOTT, 1986; CACECI et al., 1988; LOVETT; FELDER, 1990c), e alguns trabalhos, ainda apontam a existência de um quinto tipo celular, as células M (AL-MOHANNA; NOTT, 1985b; VOGT, 1985; RAMADEVI et al., 1990; RIBEIRO, 2006; PAPA, 2007; FRANCESCHINI-VICENTINI et al., 2009), assim como observado na glândula digestiva de *F. brasiliensis*.

A partir dos resultados obtidos neste estudo, principalmente no que diz respeito à distribuição e características citológicas, considera-se que as células F, R tem origem a partir das células E (HIRSH; JACOBS, 1930; HOPKIN; NOTT, 1980; AL-MOHANNA et al., 1985a; ZILLI et al., 2003) enquanto que as células B são derivadas das F, como um estágio avançado de desenvolvimento.

Nas análises histológicas pode-se observar que as células F e M destacam-se pela intensa basofilia por apresentarem um retículo endoplasmático desenvolvido (ICELY; NOTT, 1992), como também observado por meio da microscopia eletrônica de transmissão; já os testes histoquímicos demonstram intensa marcação pelo azul de bromofenol. Tais características confirmam o papel destas células como sendo as grandes responsáveis pela síntese proteica: as células F, pela produção de enzimas digestivas que acumulam nos vacúolos supranucleares, além da produção de zimogênio; e as células M, caracteristicamente sem contato com o lúmen do túbulo hepatopancreático, com enzimas provavelmente envolvidas na condensação e mobilização do material de reserva absorvido (ICELY; NOTT, 1992).

Em seu estudo imunohistoquímico, Vogt et al. (1989) mostraram que os vacúolos das células F contém a protease astacina, enzima ausente nas células B ou R e que é transportada para o estômago no aguardo do próximo alimento (ICELY; NOTT, 1992).

A presença de grânulos de cálcio e fósforo foram observados durante o estágio de pré-muda no hepatopâncreas dos braquiúros *Callinectes sapidus* (BECKER et al., 1974 apud BROUWER; LEE, 2007) e *Carcinus maenas* (HOPKIN; NOTT, 1979). Alguns autores, ainda, apontaram a ocorrência de mudanças profundas no conteúdo de cálcio durante o ciclo de muda em espécies de decápodos (GREENAWAY, 1985; SCOTT-FORDSMAND; DEPLEDGE, 1997). Apesar disto, entre as fêmeas de *F. brasiliensis* não foram detectadas diferenças quanto à marcação de cálcio no citoplasma das células F e M, em ambos os estágios estudados.

O cálcio é importante para a imediata recalcificação do exoesqueleto após a ecdise, apesar de seu armazenamento no hepatopâncreas representar apenas uma pequena fração do conteúdo total de cálcio existente no estágio da intermuda (SCOTT-FORDSMAND; DEPLEDGE, 1997). Chavez-Crooker et al. (2003) sugerem que, ainda que organelas como os lisossomos e mitocôndrias sejam conhecidas por armazenar o cálcio, o retículo endoplasmático é o maior local das células hepatopancreáticas onde este elemento do exoesqueleto é temporariamente armazenado durante a pré-muda, sendo liberado na pós-muda e intermuda. Isso justifica a presença destas organelas em grande quantidade nas células F, estando, nas fêmeas esgotadas, as cisternas dilatadas provavelmente pelo acúmulo deste elemento.

Apesar de este estudo indicar que, em *F. brasiliensis*, as células B têm origem a partir da diferenciação das células F, assim como ocorre em *Penaeus semisulcatus* (AL-MOHANNA et al., 1985a), sendo possível, inclusive, observar as diferentes configurações ultraestruturais que ocorrem durante esta transição, elas diferem consideravelmente entre si quando submetidas às reações histoquímicas. As células B demonstraram reação principalmente para polissacarídeos neutros no grande vacúolo apical, havendo sua posterior extrusão no lúmen após a digestão intracelular.

As células R, cilíndricas e com borda em escova apical, corroboram dados da literatura que as apontam como sendo uma célula com função de absorção e de armazenamento de nutrientes (VOGT et al., 1989; ICELY; NOTT, 1992). Estas se apresentam como o principal tipo celular distribuído pelo epitélio do hepatopâncreas de crustáceos e destacam-se pelos inúmeros vacúolos que ocupam seu citoplasma, locais de acúmulo de substâncias de reserva (lipídios e glicogênio) (ICELY; NOTT, 1992). Segundo Hasek e Felder (2005), a demanda lipídica para a maturação ovariana parece ser obtida mais através da dieta do que dos estoques pré-existentes no hepatopâncreas, talvez por isso, histoquimicamente, não tenham sido

encontradas grandes diferenças na marcação para lipídios entre os estágios gonadais estudados. Entretanto, ultraestruturalmente, nas fêmeas esgotadas ficou evidente a presença de maior quantidade de gotas lipídicas, importante para o desenvolvimento de novos ovócitos. Além desta moderada marcação histoquímica para lipídios, foi encontrado material com propriedades polissacarídicas ácidas no interior dos vacúolos, metabólitos estes absorvidos diretamente do lúmen ou da própria hemolinfa, sob a forma de pequenas partículas.

Alguns estudos ultraestruturais com as células epiteliais do hepatopâncreas de crustáceos em diferentes períodos de alimentação durante o ciclo de muda ilustram a localização de metais dentro dos vacúolos supranucleares das células R (AL-MOHANNA, NOTT, 1987 apud CHAVEZ-CROOKER et al., 2003). De acordo com Chavez-Crooker et al. (2003) é provável que a distribuição de cálcio e de metais encontrada por ocasião do estudo com a lagosta *Homarus americanus*, reflita as atividades lisossomais e mitocondriais das células R, células estas, assim como as F, conhecidamente armazenadoras de alguns tipos de metais (ICELY; NOTT, 1992).

As células E, localizadas na porção mais distal do túbulo hepatopancreático, são as responsáveis pela renovação do epitélio; apresentam durante a intermuda, alta atividade mitótica após a alimentação do animal, cessando-a antes da ecdise (AL-MOHANNA; NOTT, 1989). Ainda que as células E destaquem-se apenas pela capacidade de gerar os demais tipos celulares, Chavez-Crooker et al. (2003) sugeriram que estas, bem como as R, desempenham papéis significativos na homeostase do cálcio e de metais pesados, uma vez que encontraram altas concentrações destes elementos no hepatopâncreas de *H. americanus*. Neste caso, segundo estes autores, o cálcio poderia estar envolvido na regulação dos eventos mitóticos cálcio-dependentes das células E, enquanto a metalotioneína sintetizada ligar-se-ia aos metais para a detoxificação. Entretanto, estas células, em *F. brasiliensis*, não reagiram aos testes aplicados, pelo fato de partículas traço ou enzimas hidrolíticas não serem detectadas nas células E (ICELY; NOTT, 1992) e, provavelmente, pelos indivíduos estudados estarem em estágio em que não há ocorrência de mitoses.

Em geral, em *F. brasiliensis*, sob o ponto de vista histoquímico, os diferentes tipos celulares do hepatopâncreas apresentaram diferenças quanto à constituição de proteínas, carboidratos, lipídios e cálcio, apesar disto, comparando-se ambos os estágios estudados os resultados foram semelhantes, o que corrobora os estudos de Peterle (2011) com *X. kroyeri*.

Entretanto, o estudo histológico desta glândula de *F. brasiliensis* evidenciou diferenças estruturais nos túbulos quando se comparou aquelas provenientes das fêmeas nos

estágios de gônadas desenvolvidas com aquelas esgotadas, sendo nestas últimas, observada a presença de um epitélio escamoso, devido à secreção holócrina das células hepatopancreáticas. Odewndaal e Reinecke (2003) também encontraram estas mesmas mudanças epiteliais no hepatopâncreas do crustáceo *Porcellio laevis* (LATREILLE, 1804), porém em dose dependentes da exposição ao Cd, e sugeriram que a presença deste elemento obtido através da alimentação, quando na luz do túbulo, poderia afetar a membrana apical das células, resultando na redução destas. Diminuição na espessura da camada epitelial da glândula digestiva após contato com contaminantes também foi observada no peneídeo *L. vannamei* (WU et al., 2008) e em moluscos (SUNILA, 1986). Apesar disto, neste estudo, é improvável que as alterações morfológicas sejam devido à contaminação por Cd, visto que os indivíduos dos dois estágios foram provenientes de um mesmo ponto de coleta e as análises por espectrofotometria indicaram ausência deste elemento naqueles *F. brasiliensis* analisados.

Considerando que a maioria dos trabalhos relaciona a morfologia do hepatopâncreas com estágios da muda e de alimentação e que são raros os trabalhos relacionados à fase reprodutora, neste trabalho, inferiu-se que as fêmeas com gônadas desenvolvidas estão provavelmente na fase final da pós-muda ou no início da intermuda, quando reservas serão transferidas para os ovócitos que entrarão em maturação; enquanto aquelas com gônadas esgotadas, no final da fase de intermuda, pré-muda ou início da pós-muda, quando haverá a liberação de secreção das células do hepatopâncreas destinadas à formação e endurecimento da nova carapaça.

Segundo Al-Mohanna e Nott (1989), durante o início da pré-muda, quando a alimentação cessa, as células B estão em máxima frequência, estando, na porção distal, envolvidas na digestão e assimilação, enquanto na região proximal, absorvem material luminal provavelmente derivado das células R para, nos últimos estágios da pré-muda, os resíduos serem eliminados por extrusão do grande vacúolo (ICELY; NOTT, 1992). Já na pós-muda, o epitélio é dominado pelas células R e F, enquanto as B, confinadas a região proximal apresentam um vacúolo que não libera seu conteúdo para o lúmen, refletindo a condição de jejum do estágio. Tais descrições conferem com as características histológicas, ultraestruturais e ultramorfológicas aqui observadas nas células estudadas, confirmando as inferências quanto aos prováveis estágios de muda em que as fêmeas estudadas se encontravam.

De acordo com Dall et al. (1990), as fêmeas de peneídeos que possuem télico fechado, como *F. brasiliensis* e *X. kroyeri*, copulam logo após a muda, tendo início a maturação dos ovócitos. Entretanto, é difícil definir precisamente os estágios deste ciclo em camarões

peneídeos obtidos *in situ*, visto que estes sofrem ecdise em tempos curtos e variáveis, tornando complicado estabelecer uma relação precisa com as características do hepatopâncreas, como apontado para o palemonídeo *Macrobrachium amazonicum* (MARCOLIN et al., 2008). Assim sendo, aqui apenas inferiu-se sobre a possível fase do ciclo de muda em que estas se encontravam.

O presente estudo verificou, também, o teor de metais pesados como o zinco, cobre, chumbo, cádmio e cromo nas amostras de água marinha das cidades de Marataízes e Guarapari, ambas as regiões fortemente atingidas pelas atividades antrópicas no litoral sul do Espírito Santo.

A poluição marinha constitui um problema crescente, especialmente em estuários e áreas costeiras adjacentes a regiões densamente povoadas ou industrializadas (BROUWER; LEE, 2007) e os metais, como poluentes persistentes no ambiente, torna-os mais ainda perigosos (VIARENGO, 1989). Um dos aspectos mais preocupantes é que alguns elementos como o Al, Ar, Ba, Be, Cd, Pb, Hg e Ni alteram as estruturas celulares e substituem metais cofatores de atividades enzimáticas (MINDELL; MUNDIS, 1996 apud VIRGA, 2007).

Desta forma, além de analisar as amostras das águas destes dois locais, por espectrofotometria de absorção atômica, foram realizadas as leituras dos metais pesados presentes nos indivíduos das espécies *F. brasiliensis* e *X. kroyeri* lá encontradas, na tentativa de se estabelecer uma relação destes animais com o ambiente em que vivem.

Sabe-se que alguns metais-traço como o cobalto, cobre, ferro, manganês, molibdênio, níquel, selênio e zinco são essenciais para a função de uma ampla variedade de proteínas, incluindo enzimas, proteínas ligadas a oxigênio, transportadoras de elétrons e que se ligam ao DNA. Entretanto, estes metais, quando presentes em excesso também se tornam poluentes ambientais (BROUWER; LEE, 2007).

Como apontado no trabalho de Brower e Lee (2007), estes xenobióticos podem atingir animais via água, sedimento ou alimento, via brânquias ou estômago e acumular no hepatopâncreas rico em lipídios. Em diversos estudos com crustáceos, tem-se visto que o hepatopâncreas é órgão onde geralmente mais se acumulam metais (RUELAS-INZUNZA et al. 2004; NORUM et al., 2005; METIAN et al., 2010), sendo crucial nos processos de detoxificação (GIBSON; BARKER, 1979, ICELY; NOTT, 1992; VOGT, 1994; RAINBOW, 1998).

De acordo com Lee (1989), compostos xenobióticos que não são prontamente eliminados são primariamente armazenados nos lipídios das células R, enquanto aqueles mais



extensivamente metabolizados, vão diretamente para o citoplasma das células F. Sendo assim, acredita-se que inicialmente estes componentes entram nos lipídios das células R e depois são transferidos e metabolizados pelas F, sendo os produtos conjugados resultantes solúveis em água para serem, posteriormente, eliminados. Andersen e Baatrup (1988) localizaram, em estudo sob microscopia eletrônica, as maiores concentrações de mercúrio no hepatopâncreas do camarão-marrom *Crangon crangon*, predominantemente localizado na região basal das células R e também no interior das células F e B. Apesar disto, Papathanassiou e King (1986) afirmam que no caso de *Palaemon serratus* expostos ao Cd mudanças são observadas na ultraestrutura das células hepatopancreáticas R e F, afetando processos como transporte iônico, absorção e síntese de proteínas no interior destas; entretanto, não são encontradas diferenças nas células B.

Ainda que alguns trabalhos considerem que a maioria dos crustáceos responda de maneira similar a xenobióticos (BROUWER; LEE, 2007), o acúmulo de metais pesados pode variar em quantidade entre as diferentes espécies (RUELAS-INZUNZA et al. 2004; NUNES et al., dados não publicados), com o sexo (MANTELATTO et al., 1999; MARTÍN-DÍAZ et al., 2006), nos diferentes órgãos de um mesmo indivíduo (GOULD, 1980; NUNES et al., dados não publicados) e até mesmo de acordo com o estágio do ciclo de muda (NORUM et al., 2005) ou de reprodução (BONDGAARD et al., 2000), ou ainda, com a salinidade (HUTCHESON, 1974) e sazonalidade (MANTELATTO et al., 1999).

Neste sentido, a literatura aponta que, durante o período pós-muda, quando o exoesqueleto recém-formado precisa ser calcificado, pode haver um aumento simultâneo do acúmulo de Cd via proteínas transportadoras de cálcio (PEDERSEN; BJERREGAARD, 2000). Norum et al. (2005) em estudos com o caranguejo *Carcinus maenas* verificaram um maior acúmulo deste elemento na fase de pós-muda, tanto na hemolinfa, brânquias, músculo e principalmente na glândula digestiva, porém observaram que isso não interferiu no acúmulo de cálcio ou na distribuição deste em nenhum dos estágios do ciclo de muda. Andersen e Baatrup (1988) afirmaram que a acumulação de mercúrio no corpo do carídeo *C. crangon* independe da ocorrência da muda.

Neste estudo, ainda que elementos como o Cd e Cr tenham sido encontrados nas águas, adultos inteiros das espécies *F. brasiliensis* e *X. kroyeri* analisados não apresentaram estes elementos em quantidades detectáveis, possivelmente, devido aos eficientes processos de detoxificação. Metian et al. (2010), em estudos como o camarão-azul *L. stylirostris* da Nova Caledônia, verificaram queda brusca nas concentrações elevadas de Cd e Cr no

hepatopâncreas, após 43 dias de depuração, confirmando a capacidade de detoxificação do órgão. Isso pode ocorrer devido a transferência do excesso de Cr do hepatopâncreas para o músculo, como inferido por Reichmuth et al. (2010).

Outro fator que pode influenciar na biodisponibilidade de metais é a salinidade, sendo estes inversamente proporcionais (LEE et al., 1998) como apontado por Hutcheson (1974) que observou maior absorção de Cd nas brânquias quando a salinidade foi baixa. Assim, ainda que não verificado este fator ambiental, a salinidade pode ter sido a causa da ausência deste elemento nos indivíduos das espécies estudadas.

Há evidências crescentes de que os crustáceos decápodos também são capazes de regular os teores de cobre do corpo para limites estreitos (BROUWER; LEE, 2007), como ocorre com *Carcinus maenas* e *Palaemon elegans* que mantem os níveis deste abaixo dos níveis dissolvidos. Apesar disto, dos elementos aqui estudados, este esteve presente em maior concentração nos indivíduos *F. brasiliensis* e o foi segundo mais abundante nos *X. kroyeri*, ainda que nas amostras de água dos respectivos pontos de coleta, esteve em níveis pouco acima do estabelecido pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente- CONAMA (2005).

Isto pode ser explicado pela existência de diferença inata entre as espécies de camarões quanto aos limites de tolerância (FRIAS-ESPERICUETA et al., 2008). Além disto, os teores elevados encontrados podem estar relacionados com o fato de que o Cu é armazenado no hepatopâncreas por ser essencial para a síntese de hemocianina logo após a muda (AL-MOHANNA; NOTT, 1989).

O cobre ou os produtos da degradação pela metalotioneína- proteína de baixo peso molecular que é expressa em muitos tecidos e células depois da exposição ao metal- acumulam no hepatopâncreas do camarão *Penaeus semisulcatus* na fase em que se alimentam (intermuda), sendo evidenciado pela presença de derivados lisossomais densos e grânulos de cobre e enxofre nas células R. Apesar da espectrofotometria ter indicado a presença deste elemento nos indivíduos estudados, nas análises sob MET, não foram observados estes grânulos de Cu nem muitos lisossomos densos. A presença deste metal, assim como o Cd e Hg podem inibir o crescimento de embriões e reduzir a sobrevivência de juvenis de siris azuis (BROUWER; LEE, 2007).

O Zn e o Cu foram os elementos que estiveram em maior concentração nos adultos de ambas as espécies de peneídeos aqui estudadas. Estes podem ter se destacado por, além de serem considerados elementos traço, assim se apresentarem em indivíduos sexualmente maduros (PAÉZ-OSUNA; RUIZ-FERNÁNDEZ, 1995). Apesar disto, Santos et al. (2000)

observaram também que, em *F. paulensis*, a exposição a estes elementos provoca a redução significativa do consumo de alimento possivelmente devido a seus efeitos nos mecanismos quimiosensitivos das pós-larvas, além de haver queda de consumo de oxigênio e consequente redução da taxa de crescimento.

As análises de metais em *F. brasiliensis* e *X. kroyeri* foram realizadas utilizando-se indivíduos adultos inteiros, sem dissecação dos vários órgãos, porém Kouba et al. (2010) observaram que em lagostim, o Cd, Zn, Cu, Pb e Cr é principalmente acumulado no hepatopâncreas, enquanto os músculos e o exoesqueleto acumulam, especificamente, Hg e Ni, indicando a ocorrência de variações quanto ao principal local de acúmulo de cada um dos metais pesados.

Virga et al. (2007) realizando as medidas dos teores dos mesmos metais nas partes moles de siris azuis, encontraram também, o Cr em níveis elevados, enquanto todos os demais elementos tiveram seus valores médios abaixo dos estabelecidos para alimentos pela legislação brasileira, considerando-os como não-contaminados e apropriados para o consumo. Frías-Espericueta et al. (2009), verificaram que estes mesmos elementos, em *L. vannamei*, estiveram em níveis inferiores aos determinados para crustáceos, assim como os dados encontrados neste estudo e por Alves-Costa e Costa (2004) para *F. brasiliensis*.

Os crustáceos são animais capazes de se tornarem tolerantes a contaminantes quando expostos por muito tempo e que possuem mecanismos eficientes para a eliminação do excesso de metais pesados (via excreção pela glândula antenal, exúvia) ou degradação via metalotioneína. Neste estudo, *F. brasiliensis* e *X. kroyeri* se mostram espécies bioacumuladoras, por apresentarem alguns elementos em concentrações acima das presentes nas águas da região sul do Espírito Santo. Reichmunth et al. (2009) afirmaram que apesar do siri-azul *Callinectes sapidus* refletir as concentrações ambientais dos metais, existe um alto grau de variabilidade dentro de uma população, podendo haver o acúmulo sob diferentes formas e concentrações devido à ampla variedade na dieta destes animais.

Kouba et al. (2010) consideraram o lagostim, de ambos sexos, bioindicadores de contaminação por metais pesados de ecossistemas de água-doce, devido à rápida bioacumulação e longo tempo de retenção, afirmando ser o tecido hepatopancreático específico para o acúmulo de Cd, Zn, Cu, Pb e Cr.

Desta forma, Rainbow (1996) afirmou que existe uma relação complexa entre a quantidade de metais nos tecidos e o estado fisiológico dos invertebrados, havendo variações entre fisiotipos individuais, no caso dos crustáceos.

Diante dos resultados obtidos, o presente trabalho deixa clara a importância de estudos de órgãos-chave para a sobrevivência dos camarões, como o hepatopâncreas, uma vez que trazem esclarecimentos a respeito de seu comportamento diante de sua interação com o ambiente, permitindo o sucesso adaptativo. Entretanto, por ser um órgão extremamente complexo por estar envolvido em muitas reações metabólicas, seria de extrema importância um monitoramento “ex-situ” destes animais, para o estabelecimento da influência dos estágios de muda e de reprodução, assim como da alimentação e dos diferentes contaminantes em várias concentrações, na morfofisiologia do hepatopâncreas e, conseqüentemente, auxiliar nos estudos de monitoramento ambiental e/ou cultivo destas espécies economicamente destacáveis.

*Conclusões*

---

## VI. CONCLUSÕES

Por meio da aplicação de técnicas morfológicas e análises da presença de metais pesados em amostras da água e camarões do litoral sul do Espírito Santo, o presente estudo demonstrou que:

- A estrutura histológica do hepatopâncreas das fêmeas de *Farfantepenaeus brasiliensis* assemelha-se a de outras espécies de peneídeos, sendo o epitélio hepatopancreático composto por cinco tipos celulares: células E, F, R, B e M;
- As células F e M mostraram-se ricas em proteínas e cálcio, enquanto as células B e R destacaram-se pela presença de polissacarídeos neutros e ácidos, respectivamente;
- As características ultraestruturais, histológicas e histoquímicas corroboraram as descrições de várias outras espécies de decápodos, confirmando o papel do hepatopâncreas na síntese e na secreção de enzimas digestivas, bem como na absorção de nutrientes, excreção de metabólitos e reserva energética para os



processos reprodutivos; todas estas atividades são influenciadas pelo estágio de desenvolvimento gonadal, além da muda e alimentação;

- As duas espécies de camarões aqui estudadas bioacumulam teores de alguns metais pesados, não necessariamente apenas aqueles essenciais, em níveis superiores aos encontrados nas amostras de água, provavelmente devido a estes elementos, possivelmente, terem origem a partir de outro fator abiótico (sedimento);
- As espécies *F. brasiliensis* e *X. kroyeri* desenvolveram mecanismos de detoxificação eficientes, desempenhados pelo hepatopâncreas, visto que estes animais mantem as concentrações corpóreas de metais pesados dentro dos limites de sobrevivência e para consumo humano, ainda que no meio aquático de Guarapari e Marataízes/ES haja níveis superiores aos pré-determinados;
- *F. brasiliensis* e *X. kroyeri* não se mostram espécies adequadas para a representação das condições ambientais de um determinado momento por poderem acumular os elementos contaminantes do ambiente (água e sedimento) ao longo do tempo, além de possuírem vários mecanismos de detoxificação;
- A experimentação, em laboratório, com estas espécies seria ideal para o controle de parâmetros como alimentação, fases de muda, estágio de desenvolvimento gonadal, salinidade e concentração de metais pesados dissolvidos e particulados, a fim de apontar resultados mais precisos sobre os efeitos da contaminação sobre o hepatopâncreas e suas atividades metabólicas.

## *Referências*

---

## VII. REFERÊNCIAS

ABDALLA, F. C.; CRUZ-LANDIM, C. Ocorrência, Morfologia e Ultra-Estrutura da Glândula de Dufour de *Scaptotrigona postica* Latreille (Hymenoptera: Apidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 1, p. 47-57, 2005.

ABDELMEGUID, N. E.; AWAD, H. E.; IBRAHIM, A. M.; YOUSEF, N. A. Ultrastructural changes in hepatopancreas of *Palaemon serratus*, following treatment with petroleum carcinogenic compounds. **Pakistan Journal of Nutrition**, v. 8, n. 6, p. 770-781, 2009.

ADIYODI, R. G.; ADIYODI, K. G. Hepatopancreas of *Paratelphusa hydrodromous* (Herbst): histophysiology and the pattern of proteins in relation to reproduction and moult. **Biological Bulletin**, v. 142, p. 359-369, 1972.

AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. A. M-“midget” cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* de Haan 1884 (Decapoda: Natantia). **Crustaceana**, v. 48, p. 260-268, 1985b.

AL-MOHANNA; S. Y.; NOTT, J. A. B-cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 66, p. 403-414, 1986.

AL-MOHANNA, S. Y.; NOTT, J. A. R-cells and the digestion cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). **Marine Biological**, v. 95, p. 129-137, 1987.

- AL-MOHANNA. S. Y.; NOTT, J. A. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. **Marine Biology**, v. 101, p. 503-544, 1989.
- AL-MOHANNA. S. Y.; NOTT, J. A.; LANE, D. J. W. Mitotic E and secretory F-cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 65, p. 901-910, 1985a.
- AL-MOHANNA. S. Y.; NOTT, J. A.; LANE, D. J. W. M- “midget” cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* de Haan 1844 (Decapoda: Natantia). **Crustaceana**, v. 48, p. 260-268, 1985b.
- ALVES-COSTA, F. A.; DA COSTA, R. C. Níveis de metais pesados no camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Crustacea, Decapoda) na enseada de Ubatuba, Ubatuba, São Paulo. **Revista Biociências**, Taubaté, v.10, n. 4, p. 199-203, 2004.
- ANDERSEN, A. C.; BAATRUP, E. Ultrastructural localization of mercury accumulation in the gills, hepatopancreas, midgut and antennal glands of the brown shrimp, *Crangon crangon*. **Aquatic Toxicology**, v.13, p. 309-324, 1988.
- ANDRADE, C. F. F. D. **Uma Introdução à Bioinorgânica**. Instituto de Química e Geociências. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 2003. 46 p.
- BAKER, J. R. The histochemical recognition of lipine. **Quarterly Journal of Microscopical Science**, Oxford, v. 87, p. 441-470, 1946.
- BARKER, P. L.; GIBSON, R. Observations on the structure of the mouthparts, histology of the alimentary tract, and digestive physiology of the mud crab *Scylla serrata* (Forskål) (Decapoda: Portunidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 32, p. 177-196, 1978.
- BARNES, P. C.; OLIVE, R. J. W. **Os Invertebrados: uma nova síntese**. São Paulo: Ed. Atheneu, 2ª ed., 1995. 526p.
- BAUER, R. T.; LIN, J. Temporal patterns of reproduction and recruitment in populations of the penaeid shrimps *Trachypenaeus similis* (Smith) and *T. constrictus* (Stimpson) (Crustacea: Decapoda) from the north-central Gulf of Mexico. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 182, p. 205-222, 1994.
- BAUTISTA, M. N.; LAVILLA-PITOGO, C.; SUBOSA, P. F.; BEGINO, E. T. Flatoxin B1 contamination of shrimp feeds and its effect on growth and hepatopancreas of preadult *Penaeus monodon*. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 65, p. 5-11, 1994.
- BLOCKWELL, S. J.; TAYLOR, E. J.; JONES, I.; PASCOE, D. The influence of fresh water pollutants and interaction with *Asellus aquaticus* (L.) on the feeding activity of *Gammarus pulex* (L.) **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 34, p. 41-47, 1998.

- BONDGAARD, M.; NORUM, U.; BJERREGAARD, P. Cadmium accumulation in the female shore crab *Carcinus maenas* during the moult cycle and ovarian maturation. **Marine Biology**, v. 137, p. 995-1004, 2000.
- BOSCHI, E. E. Los camarones comerciales de la familia Penaeidae de la costa atlântica de América Del Sur. **Boletín del Instituto Biología Marina**, v. 3, p. 5-39, 1963.
- BOSCHI, E. E. Biodiversity of marine Decapoda brachyurans of the Americas. **Journal of Crustacean Biology**, v. 20, n.2, p. 337-342, 2000.
- BRANCO, J. O. Biologia e pesca do camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (Crustacea, Penaeidae) na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 22, n.4, p. 1050-1062, 2005.
- BRANCO, J. O.; MORITZ JR., H. C. Alimentação natural do camarão sete-barbas, *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (Crustacea, Decapoda), na Armação do Itapocoroy, Penha, Santa Catarina. **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 1, p. 53-61, 2001.
- BRASIL, Portaria nº. 685/98. Aprova o Regulamento Técnico: “**Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos**” e seu Anexo: “Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos”, complementa e faz algumas modificações no Decreto Lei nº 55.871, de 26 de março de 1965. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685\\_98.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm)>. Acesso em: 22 de junho de 2011.
- BROUWER, M.; LEE, R. F. Responses to toxic chemicals at the molecular, cellular, tissue, and organismal level. In: **The Blue Crab *Callinectes sapidus***. KENNEDY, V. S.; CRONIN, L. E. (Eds). Maryland Sea Grant College, College Park, Maryland, 2007. p. 485-512.
- BRUNET, M.; ARNAUD, J.; MAZZA, J. Gut structure and digestive cellular processes in marine Crustacea. **Oceanography and Marine Biology**, v. 32, p. 335-367, 1994.
- BRUSCA, R. C; BRUSCA, G. J. **Invertebrates**. Editora: Sinauer, 2007. 922p.
- BURKENROAD, M. D. The Evolution of the Eucarida (Crustacea, Eumalacostraca), in Relation to the Fossil Record. **Tulane Studies on Geology**, v. 2, p. 1-17, 1963.
- BURKENROAD, M. D. The higher taxonomy and evolution of Decapoda (Crustacea). **Transactions of the San Diego Society of Natural History**, v.19, p. 251-268, 1981.
- BURKENROAD, M. D. Natural classification of Dendrobranchiata with a key to recent genera. In: SCHRAM, F. Crustacean phylogeny. **Crustacean Issues**, v. 3, p. 279-290, 1983.
- CACECI, T.; NECK, K. F.; LEWIS, D. H.; SIS, R. F. Ultrastructure of the hepatopancreas of the pacific white shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 68, p. 323-337, 1988.
- CASTILHO, A. L.; FRANSOZO, A.; COSTA, R. C.; BOSCHI, E. Reproductive biology of the shrimp *Artemesia longinaris* Bate, 1888 (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) in the northern Coast of São Paulo State, Brazil. **Revista de Biología Tropical**, v.55, p. 39-48, 2007.

- CASTRO, R. H.; COSTA, R. C.; FRANSOZO, A.; MANTELATTO, F. L. M. Population structure of the seabob shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Penaeoidea) in the littoral of São Paulo, Brazil. **Scientia Marina**, v.69, n. 1, p. 105-112, 2005.
- CAVALLI, R. O. **Broodstock nutrition and offspring quality of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man)**. 2000. Dissertation (PhD). Faculty of Agricultural and Applied Biological Sciences, Ghent University, Ghent, Belgium, 2000.
- CECCALDI, H. J. Anatomy and physiology of digestive tract of Crustaceans decapods reared in aquaculture. **Advances in Tropical Aquaculture**, v. 9, p. 243-259, 1989.
- CHAVEZ-CROOKER, P.; POZO, P.; CASTRO, H.; DICE, M. S.; BOUTER, I.; TANGUY, A.; MORAGA, D.; AHEARN, G. A. Cellular localization of calcium, heavy metals, and metalotioneína in lobster (*Homarus americanus*) hepatopancreas. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part C, v. 136, p. 213-224, 2003.
- CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA N° 357/17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: agosto, 2011.
- CORRÊA JR., J. D.; FARINA, M.; ALLODI, S. Cytoarchitectural features of *Ucides cordatus* (Crustacea: Decapoda) hepatopancreas: structure and elemental composition of electron-dense granules. **Tissue and Cell**, v. 34, n. 5, p. 315-325, 2002.
- CORTÉS, M. L.; CRIALES, M. M. Analisis del contenido estomacal del camaron titi *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller) (Crustacea: Natantia: Penaeidae). **Annales Del Instituto de Investigaciones Marinas**, 19-20: 23-33, 1990.
- COSTA, R. C.; FRANSOZO, A. Reproductive biology of the shrimp *Rimapenaeus constrictus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae) in Ubatuba region, SP, Brazil. **Journal of Crustacean Biology**, EUA, v. 24, n. 2, p. 274-281, 2004.
- COSTA, R. C.; FRANSOZO, A.; SCHMIDT, G. A.; FREIRE, F. A. M. 2003. Chave ilustrada para identificação dos camarões Dendrobranchiata do litoral norte do Estado de São Paulo. **Biota Neotropical**, v. 3, n. 1, p. 1-12.
- COUTINHO, D. A. **Aspectos da toxicocinética do mercúrio em camarões de cultivo *Litopenaeus vannamei* (Bonne, 1931)**. 2008. 120p. Dissertação (Mestrado), Universidade Federal do Rio de Janeiro-IBCCF, RJ, 2008.
- CUARTAS, E. I.; DIAZ, A. C.; PETRIELLA, A. M. Modificaciones del hepatopancreas del langostino *Pleoticus muelleri* (Crustacea, Penaeoidea) por efecto de la salinidade. **Biociencias**, v. 11, n. 1, p. 53-59, 2003.
- D' INCAO F. **Pesca e Biologia de *Penaeus paulensis* na lagoa dos Patos, RS**. **Atlantica**, v. 13, n.1, p. 159-169, 1991.



- D' INCAO, F. **Taxonomia, padrões distribucionais e ecológicos dos Dendrobranchiata (Crustacea: Decapoda) do litoral brasileiro**. 1995. 365p. Tese (Doutorado), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 1995.
- D'INCAO, F. Subordem Dendrobranchiata (camarões marinhos), p. 271-299. In: BUCKUP, L.; BOND-BUCKUP, G. (Eds.) **Os Crustáceos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora da Universidade, 1999. 514 p.
- D' INCAO, F.; DELEVADOVE, G.; MAGGIONI, D. E.; MAGGIONI, R. Evidência genética da presença de *Farfantepenaeus paulensis* (Pérez Farfante, 1967) no litoral nordeste do Brasil (Decapoda: Penaeidae). **Nauplius**, Rio Grande, v. 6, p. 129-137, 1998.
- D'INCAO, F.; VALENTINI, H.; RODRIGUES, L. F. Avaliação da pesca de camarões nas regiões sudeste e sul do Brasil. **Atlântica**, v. 24, n. 2, p. 103-116, 2002.
- DALL, W.; MORIATY, D. J. W. Functional aspects of nutrition and digestion: The midgut. In: BLISS, D. E.; MANTEL L. H. (Eds). **The Biology of Crustacea**. International anatomy and physiological regulation. New York: Academic Press, 1983. p. 215-261.
- DALL, W; HILL, B. J.; ROTHLSBERG, P. C.; STAPLES, D. J. The biology of the Penaeidae; In: BLAXTER, J. H. S.; SOUTHWARD, A. J. (Ed). **Advances in Marine Biology**, San Diego: Academic Press, 1990. v. 27, 489p.
- DAVID, J. A. O. **Estudo de *Mytella falcata* (Mollusca, Bivalvia) como indicadora de efeitos genotóxicos e citotóxicos no Estuário de Santos, S.P.** 2007. 205p. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista/UNESP, Instituto de Biociências. Rio Claro, S.P., 2007.
- DE GRAVE, S.; PENTCHEFF, N. D.; AHYONG, S.T.; CHAN, T.Y.; CRANDALL, K.A.; DWORSCHAK, P.C.; FELDER, D.L.; FELDMANN, R.M.; FRANSEN, C.H.J.M.; GOULDING, L.Y.D.; LEMAITRE, R.; LOW, M.E.Y.; MARTIN, J.W.; NG, P.K.L.; SCHWEITZER, C.E.; TAN, S.H.; TSHUDY, D.; WETZER, R. A classification of living and fossil genera of decapod crustaceans. **Raffles Bulletin of Zoology**, n. 21, p. 1-109, 2009.
- DUMONT, L. F. C.; D'INCAO, F.; SANTOS, R. A.; MALUCHE, S.; RODRIGUES, L. F. Ovarian development of wild pink prawn *Farfantepenaeus paulensis* (Decapoda: Penaeidae) in northern Santa Catarina State. **Nauplius**, v. 15, p. 65-71, 2007.
- ELINDER, C. G. Zinc. In: FRIBERG, L.; NORDBERG, G. F.; VOUK, V. B (ed.). **Handbook on the toxicology of metals: Specific metals**. Amsterdam: Elsevier, 1986. v. 2, p. 664-679.
- ESTEVE, M.; HERRERA, F. Hepatopancreatic alterations in *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1939) (Crustacea: Decapoda: Penaeidae) experimentally infected with a *Vibrio alginolyticus* Strain. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 76, p. 1-5, 2000.
- ESTEVEES, F. A. **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro: Interciência, 1998. 602p.

FACTOR, J. R.; NAAR, M. The digestive system of the lobsters, *Homarus americanus*: Connective tissue of the digestive gland. **Journal of Morphology**, v. 184, p. 311-21, 1985.

FAO/WHO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION/WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Food consumption and exposure assessment of chemicals. Report of a FAO/WHO consultation**. Geneva: Switzerland, 1997

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). The living marine resources of the Western Central Atlantic. In: CARPENTER, K. E. (Ed.) **FAO, Species Identification Guide for Fisheries Purposes and American Society of Ictiologist and Herpetologist**. Special Publication. n. 5, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 2002.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Yearbook of fishery statistics: catches and landings**, 2006.

FELGENHAUER, B.E.; ABELE, L.G. Phylogenetic relationships among shrimp-like decapods. **Crustacean Issues**, n. 3, p. 291-311, 1983.

FIEDLER, G. C. Sex determination and reproductive biology of two Caridean shrimp genera: *Hymenocera* and *Lysmata*. Dissertation. University of Hawaii. 2000, 220p. PhD Thesis.

FONTOURA, N. F.; BUCKUP, L. Dinâmica populacional e reprodução em *Parastacus brasiliensis* (von Martens, 1869) (Crustacea, Decapoda, Parastacidae). **Revista Brasileira de Biologia**, v. 49, n. 4, p. 911-921, 1989.

FOSSI, M. C.; CASINI, S.; SAVELLI, C.; LARI, L.; CORSI, I.; SANCHEZ-HERNANDEZ, J. C.; MATTEI, N.;FRANCHI, E.; DEPLEDGE, M. H.; MAMBER, S. Multi-trial biomarker approach using *Carcinus aestuarii* to evaluate toxicological risk due Mediterranean contaminants fields and experimental studies. **Freshwater Environmental Bulletin**, v.5, p. 706-711, 1996.

FRANCESCHINI-VICENTINI, I. B.; RIBEIRO, K.; PAPA, L. P.; MARQUES JUNIOR, J.; VICENTINI, C. A.; VALENTI, P. M. C. M. Histoarchitectural features of the hepatopancreas of the Amazon river prawn *Macrobrachium amazonicum*. **International Journal of Morphology**, v. 27, n. 1, p. 121-128, 2009.

FRANSOZO, V. **Morfologia dos caracteres sexuais secundários e caracterização gonadal masculina em *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Dendrobranchiata, Penaeoidea)**. 2008, 73f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Coordenação do Instituto de Biociências, UNESP, São Paulo, 2008.

FRANSOZO, A.; COSTA, R. C.; PINHEIRO, M. A. A.; SANTOS, S.; MANTELATTO F. L. M. Juvenile recruitment of the seabob *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller,1862) (Decapoda, Penaeidea) in the Fortaleza Bay, Ubatuba, SP, Brazil. **Nauplius**, v. 8, p. 179-184, 2000.

FRANSOZO, A.; COSTA, R. C.; MANTELATTO, F. L. M.; PINHEIRO, M. A. A.; SANTOS, S. Composition and abundance of shrimp species (Penaeidea and Caridea) in

- Fortaleza bay, Ubatuba, São Paulo, Brazil. **Modern Approaches to Study of Crustacea**. Kluwer Academic/Plenum Publishers, p. 117-123, 2002.
- FREIRE, F. A. M.; LUCHIARI, A. C.; FRANSOZO, V. Environmental substrate selection and daily habitual activity in *Xiphopenaeus kroyeri* shrimp (Heller, 1862) (Crustacea, Penaeoidea). **Indian Journal of Geo-Marine Science**, v. 40, n. 3, p. 325-330, 2011.
- FRÍAS, ESPERICUETA, M. G.; CASTRO-LONGORIA, R.; BARRÓN-GALLARDO, G. J.; OSUNA-LÓPEZ, J. I.; ABAD-ROSALES, S. M.; PÁEZ-OSUNA, F.; VOLTOLINA, D. Histological changes and survival of *Litopenaeus vannamei* juveniles with different copper concentrations. **Aquaculture**, v. 278, p. 97-100, 2008.
- FRÍAS-ESPERICUETA, M. G.; OSUNA-LÓPEZ, J. I.; VOLTOLINA, D.; BELTRÁN-VELARDE, M. A.; IZAGUIRRE-FIERRO, G.; LÓPEZ-LÓPEZ, G.; MUY-RANGEL, M.; RUBIO-CARRASCO, W. The contents of Cd, Cu, Pb and Zn of the white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) of six coastal lagoons of Sinaloa, NW Mexico. **Revista de Biología Marina y Oceanografía**, v. 44, n. 1, p. 197-201, 2009.
- GALGANI, F. G. Regulation de l'activite des proteases digestives de *Penaeus japonicus* Bate en relation avec la temperature. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 94, p. 11-18, 1985.
- GIBSON, R.; BARKER, P. L. The decapod hepatopancreas. **Oceanographic Marine Biology Annual Review**, v. 17, p. 285-346, 1979.
- GIMENEZ, A. V. F.; EENUCCI, J. L.; PETRIELLA, A. M. The effect of vitamin E on growth, survival and hepatopancreas structure of the Argentine red shrimp *Pleoticus muelleri* Bate (Crustacea, Penaeidea). **Aquatic Research**, v. 35, p. 1172-1178, 2004.
- GLAESSNER, M. F. Decapoda. In: MOORE, R. C. **Treatise in Invertebrate Paleontology**. Arthropoda 4, Part R: 399-533. The Geological Society of America & The University of Kansas Press, 1969.
- GONÇALVES, M. F. **Variação temporal e espacial da presença dos metais pesados (Cd, Cr, Ni, Pb, Zn) na bacia do Rio Barigüi e identificação de suas fontes potenciais**. 2008. 152f. (Dissertação), Departamento de Hidráulica e Saneamento, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- GONÇALVES, P. L.; N. F. FONTOURA. Dinâmica populacional de *Palaemonetes argentinus* na Lagoa da Fortaleza, Rio Grande do Sul, Brasil (Decapoda, Palaemonidae). **Iheringia**, Série Zoologia, v. 86, p. 171-182, 1999.
- GOULD, E. 1980. Low salinity stress in the American lobster, *Homarus americanus*, after chronic sublethal exposure to cadmium: Biochemical effects. **Helgoländer Meeresuntersuchungen**, v. 33, p. 36-43.
- GOWLAND, B. T.G.; NOFFAT, C. F.; STAGG, R.M.; HOULIHAN, D. F.; DAVIES, I. M. Cypermethrin induces glutathione-S-transferase activity in the shore crab, *Carcinus maenas*. **Marine Environmental Research**, v.54, p.167-177, 2002.

- GREENAWAY, P. Calcium balance and moulting in the crustacean **Biology Review**, v. 60, p. 425-454, 1985.
- GREGORY, M.A.; MARSHAL, D.J.; GEORGE, R.C.; ANANDRAJ, A.; MCCLURG, T.P. Correlations between metal uptake in the soft tissue of *Perna perna* and gill filament pathology after exposure to mercury. **Marine Pollution Bulletin**, Oxford, v. 45, p. 114-125, 2002.
- HASEK, B. E; FELDER, D. L. Biochemical composition of ovary, embryo, and hepatopancreas in th grapsoid crabs *Armases cinereum* and *Sesarma nr. reticulatum* (Crustacea, Decapoda). **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v. 140: 455-463, 2005.
- HIRSCH, G. C.; JACOBS, W. Der Arbeitsrhythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. Teil: Methodik und Technik, 1928. – In: HARRISON, F. W.; HUMES, A. G. (Ed.). **Microscopic Anatomy of Invertebrates**. New York: Wiley-Liss, 1992. p. 147-201.
- HIRSCH, G. C.; JACOBS, W. Der Arbeitsrhythmus der Mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. Teil: Washstum als primärer Faktor der Rhythmus eines polyphasischen organigen Secretions systems. **Zeitschrift fuer Vergleichende Physiologie**, v. 12, p. 524-558, 1930.
- HOLTHUIS, L. B. Shrimp and prawns of the world. An unnoted catalogue of species of interest to fisheries. **FAO Species Catalogue**, v. 1, p. 1-261, 1980.
- HOPKIN, S. P.; NOTT, J. A. Some observations on concentrically structured, intracellular granules in the hepatopancreas of the shore crab *Carcinus maenas* (L.). **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 59, p. 867-877, 1979.
- HOPKIN, S. P.; NOTT, J. A. Studies on the digestive cycle of the shore crab *Carcinus maenas* (L.) with special reference to the B cells in the hepatopancreas. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, v. 60, p. 891-907, 1980.
- HRYNIEWIECKA-ZSYFTER, Z.; BABULA, A. Ultrastructural changes in hepatopancreas cells of *Saduria entomon* (Linnaeus, 1785) (Isopoda, Valvifera) from the Baltic infected with *Cryptococco laurentii* (Kuferath). **Crustaceana**, v. 7, p. 822-830, 1997.
- HUTCHESON, M. S. The effect of temperature and salinity on cadmium uptake by the blue crab, *Callinectes sapidus*. **Chesapeake Science**, v.15, p. 237-241, 1974.
- IBAMA (Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos recursos naturais renováveis). 2004. **Estatística da pesca 2003, Brasil, Grandes Regiões e Unidades da Federação**. Ministério do Meio Ambiente. DIFAP/CGREP, 137 p.
- ICELY, J. D.; NOTT, J. A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. In: HARRISON, F. W.; HUMES, A. G. (ed.), **Microscopic Anatomy of Invertebrates**, v.10, New York: Wiley-Liss, 1992. p. 147-201.

- INSTITUTO ADOLFO LUTZ (São Paulo). 2008. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4<sup>a</sup>. ed. (1<sup>a</sup>. ed. digital). ZENEBO, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA, P. (coord.). São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p.
- INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO DO ESPÍRITO SANTO - IDES. Fundamentos para a elaboração do Plano de Ordenamento Territorial Integrado do Litoral Sul do Espírito Santo. Vitória, ES, 1999.
- IWAI, M. **Desenvolvimento larval e pós-larval de *Penaeus (Melicertus) paulensis* Pérez-Farfante, 1967 (Crustacea: Decapoda) e o ciclo de vida dos camarões do gênero *Penaeus* da região centro-sul do Brasil**. 1978. 137p. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 1978, 1978.
- JACOBS, W. Untersuchungen über die Cytologie der Seretbildung in der mitteldarmdrüse von *Astacus leptodactylus*. 1928 In: ICELY, J.D.; NOTT, J.A. Digestion and Absorption: digestive system and associated organs. **Microscopic Anatomy of Invertebrates**. Decapod Crustacea, 1992. p. 147-201.
- JECKEL, W. H.; ROTH, R. R.; RICCI, L. Patterns of trace metals distribution in tissues of *Pleoticus muelleri* (Crustacea: Decapoda: Solenoceridae). **Marine Biology**, v. 125, p. 297-306, 1996.
- JOHNSTON, M. A.; DAVIES, P. S. Carbohydrates of the hepatopancreas and blood tissues of *Carcinus*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, v. 41, n. 2, p.433-443, 1972.
- JOHNSTON, D. J.; ALEXANDER, C. G.; YELLOWLEES, D. Epithelial cytology and function in the digestive gland of *Thenus orientalis* (Decapoda: Scyllaridae). **Journal of Crustacean Biology**, v. 8, n. 2, p. 271-278, 1998.
- JUNQUEIRA, L. C. U.; JUNQUEIRA, L. M. M. S. **Técnicas básicas de citologia e histologia**. São Paulo: Editora Santos, 1983. p. 48-81.
- KAMESWARAMMA, A. L.; SHYAMASUNDARI, K. E; HANUMANTHA RAO, K. Histological and histochemical changes of the hepatopancreas in relation to moult stages of the mole crab *Emerita asiatica* (Milne Edwards) (Crustacea: Anomura). **Rivista di Hidrobiologia**, v. 29, n. 3, p. 781-796, 1990.
- KOUBA, A.; BURIC, M.; KOZÁK, P. Bioaccumulation and effects of heavy metals in crayfish: a review. **Water, Air, and Soil Pollution**, v. 211, p. 5-16, 2010.
- KYOMO, J. Analysis of the relationship between gonads and hepatopancreas in males of the crab *Sesarma intermedia*, with reference to resource and reproduction. **Marine Biology**, v. 97, p. 87-93, 1988.
- LAWRENCE, J. M. Patterns of lipid storage in post-metamorphic marine invertebrates. **American Zoologist**, v. 16, p.747-762, 1976.



- LEE, R. F. Metabolism and accumulation of xenobiotics within hepatopancreas cells of the blue crab, *Callinectes sapidus*. **Marine Environmental Research**, v. 28, p.93-97, 1989.
- LEE, B. G.; WALLACE, W. G.; LUOMA, S. N. Uptake and loss kinetics of Cd, Cr, and Zn in the bivalves *Potamocorbula amurensis* and *Macoma bathicar*: effects of size and salinity. **Marine Ecology Progress Series**, v. 175, p. 177-189, 1998.
- LOPES, M.; COSTA, R. C.; FRANSOZO, A.; CASTILHO, A. L.; SIMÕES, S. M. 2007. **Comparação diuturna na abundância e no tamanho do camarão-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* (Latreille, 1817) (Crustacea, Penaeidae) no litoral norte do Estado de São Paulo**. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, 23 a 28 de Setembro de 2007, Caxambu – MG.
- LOTHHAMMER, N.; MATTE, C.; CRUZ, P. F.; SEHN, F.; FERNANDES, M. C. **Biologia Celular – Atlas Digital**. Porto Alegre: UFRGS/UFCSPA, 2009. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/biologiacelularatlas>>. Acesso em: 27 de agosto de 2011.
- LOVETT, D. L.; FELDER, D. L. Ontogeny of gut morphology in the white shrimp *Penaeus setiferus* (Decapoda, Penaeidae). **Journal of Morphology**, v. 201, p. 253-271, 1989.
- LOVETT, D. L.; FELDER, D. L. Ontogenetic changes in enzyme distribution and midgut function in developmental stages of *Penaeus setiferus* (Crustacea, Decapoda, Penaeidae). **Biological Bulletin**, v. 178, p. 160-174, 1990c.
- MANISSERI, M. K.; MENON, N. R. Ultrastructural aberrations in the hepatopancreas of *Metapenaeus dobsoni* (Miers) exposed to Mercury. **Journal of the Marine Biological Association**. India, v. 48, n.1, p. 89-94, 2006.
- MANTELATTO, F. L. M.; FRANSOZO, A. Characterization of the physical and chemical parameters of Ubatuba Bay, northern coast of São Paulo State, Brazil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 59, p. 23-31, 1999.
- MANTELATTO, F. L. M.; AVELAR, W. E. P.; SILVA, D. M. L.; TOMAZELLI, A. C.; LOPEZ, J. L. C.; SHUHAMA, T. Heavy metals in the shrimp *Xiphopenaeus kroyeri* (Heller, 1862) (Crustacea, Penaeidae) from Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil. **Bulletin of Environment Contamination and Toxicology**, v. 62, p. 152-159, 1999.
- MANUELA, P.; SCHUWERACK, M.; LEWIS, J. W. The mode of action of acute and chronic concentrations of waterborne Cd in the digestive gland of the acclimated infested freshwater crab (*Potamonautes warreni*). **Cell Tissue Research**, v. 312, p. 249–263, 2003.
- MARCOLIN, C. R.; CARQUEIJA, C. R. G.; TOZETTO, S. O.; OLIVEIRA, D. C.; CÔRREA, A. M. A. Alterações morfológicas do hepatopancreas de *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) (Crustacea, Decapoda, Ocypodidae) em relação aos estádios de intermuda e pré-muda inicial. **Revista Brasileira de Zootecias**, v.10, n. 2, p. 97-104, 2008.
- MARTIN, J. W.; DAVIS, G. E. An updated classification of the recent Crustacea. **Science Series**, n. 19, p. 124, 2001.

- MARTÍN-DÍAZ, M. L.; TUBERTY, S. R.; MCKENNEY, C. L.; BLASCO, J.; SARASQUETE, C.; DELVALLS, T. A. The use of bioaccumulation, biomarkers and histopathology diseases in *Procambarus clarkii* to establish bioavailability of Cd and Zn after a mining spill. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 116, p. 169-184, 2006.
- MARTINS, L. C.; DA ROSA R. D.; RIVERO L. D.; NAZARI E. M.; MÜLLER Y. M. R.. Ação de detergente doméstico na Biologia Reprodutiva do Camarão de Água Doce *Macrobrachium olfersi*. **Journal of Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 1, p. 79-82, 2006.
- MELO, G. A. S. A presença, no litoral sudeste brasileiro, de espécies de Brachyura (Crustacea: Decapoda) originárias das regiões biogeográficas Magelânica e Argentina do Atlântico Sul. **Atlântica**, v. 12, n. 2, p. 71-83, 1990.
- METIAN, M.; HÉDOUIN, L.; ELTAYEB, M. M.; LACOUÉ-LABARTHE, T.; TEYSSIÉ, J.; MUGNIER, C.; BUSTAMANTE, P.; WARNAU, M. Metal and metalloid bioaccumulation in the Pacific blue shrimp *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson) from New Caledonia: laboratory and field studies. **Marine Pollution Bulletin**, v. 61, p. 576-584, 2010.
- MOMIN, M. A.; RANGNEKER, P. V. Histochemical localization of acid and alkaline phosphatases and glucose-6-phosphatase of the hepatopancreas of the crab, *Scylla serrata* (Forsk.). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 14, n. 1, p. 1-16, 1972.
- MOMIN, M. A.; RANGNEKER, P. V. Histochemical localization of oxidative enzymes in the hepatopancreas of *Scylla serrata* (Forsk.) (Brachyura: Decapoda). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 20, n. 3, p. 249-264, 1975.
- MOORE, P. G.; RAINBOW, P. S. Cooper and zinc in an ecological series of talitroidean Amphipoda (Crustacea). **Oecologia**, v. 73, p. 120-126, 1987.
- MUHLIA-ALMAZÁN, A.; GARCIA-CARREÑO, F. L. Influence of moulting and starvation on the synthesis of proteolytic enzymes in the midgut gland of the white shrimp *Penaeus vannamei*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, Part B, v. 133, p. 383-394, 2002.
- NAKAGAKI, J. M.; NEGREIROS-FRANSOZO, M. L. Population biology of *Xiphopenaeus kroyeri* (Decapoda: Penaeidae) from Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil. **Journal of Shellfish Research**, v. 17, n. 4, p. 931-935, 1998.
- NIEBOER, E.; RICHARDSON, D. H. S. The replacement of the non-descript term "heavy metals" by a biologically and chemically significant classification of metal ions. **Environmental Pollution**, v. 1, p. 3-26, 1980.
- NIMMO, R. D. W.; LIGHTNER, V. D.; BAHNER, H. L. Effects of cadmium on the shrimps, *Penaeus duorarum*, *Palaemonetes pugio* and *Palaemonetes vulgaris*. In: VERNBERG, F. J.; CALABRESE, A.; THURBERG, F. P.; VERNBERG, W. D. (Eds). **Physiological responses of marine invertebrates to pollutants**. New York: Academic Press, 1977, p. 131-138.



- NORUM, U. L.; BONDGAARD, M.; PEDERSEN, T. V.; BJERREGAARD, P. *In vivo* and *in vitro* cadmium accumulation during the moult cycle of the male shore crab *Carcinus maenas*- interaction with calcium metabolism. **Aquatic Toxicology**, v. 72, p. 29-44, 2005.
- NUNEZ-NOGUEIRA, G.; RAINBOW, P. S.; SMITH, B. D. Assimilation efficiency of zinc and cadmium in the decapod crustacean *Penaeus indicus*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 332, p. 75-83, 2006.
- ODEWENDAAL, J. P.; REINECKE, A. J. Quantifying histopathological alterations in the hepatopancreas of the woodlouse *Porcellio laevis* (Isopoda) as a biomarker of cadmium exposure. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 56, p. 319-325, 2003.
- OGURA, K. Midgut gland cells accumulating iron and copper in the crayfish, *Procambarus clarkii*. **Annotationes Zoologicae Japonenses**, v. 32, p. 133-142, 1959.
- OOSTEROM, J. V.; KING, S, C.; NEGRI, A.; HUMPHREY, C.; MONDON, J. Investigation of the mud crab (*Scylla serrate*) as a potential bio-monitoring species for tropical coastal marine environments of Australia. **Marine Pollution Bulletin**, v. 60, p. 283-290, 2010.
- PÁEZ-OSUNA, F.; RUIZ-FERNANDEZ, C. Trace metals in the Mexican shrimp *Penaeus vannamei* from estuarine and marine environments. **Environmental Pollution**, v. 87, p. 243-247, 1995.
- PÁEZ-OSUNA, F.; TRON-MAYEN, L. Concentration and distribution of heavy metals in tissues of wild and farmed shrimp *Penaeus vannamei* from the northwest coast of Mexico, **Environmental International**, v. 4, p. 443-450, 1996.
- PÁEZ-OSUNA, F.; PÉREZ-GONZALEZ, R.; IZAGUIRRE-FIERRO, G.; ZAZUETA-PADILLA, H. M.; FLORES-CAMPAÑA, L. M. Trace metals concentration and their distribution in the lobster *Panulirus inflatus* (Bouvier, 1895) from the mexican pacific coast. **Environmental Pollution**, v. 90, p. 163-170, 1995.
- PAIS, I.; JONES, J. B. **The Handbook of Trace Elements**. Delray Beach, FL: St. Lucie Press, 1997. 240p.
- PAPA, L. P. **Caracterização estrutural do sistema reprodutor masculino e do hepatopâncreas dos diferentes morfotipos de *Macrobrachium amazonicum***. 2007. 94f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", UNESP, Jaboticabal, SP, Brasil, 2007.
- PAPATHANASSIOU, E.; KING, P. E. Effects of starvation on the fine structure of the hepatopancreas in the common prawn *Palaemon serratus* (Pennant). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.77, p.243-250, 1984.
- PAPATHANASSIOU, E.; KING, P. E. Ultrastructural changes in hepatopancreatic cells of the prawn *Palaemon serratus* induced by exposure to acutely toxic cadmium concentrations. **Diseases of Aquatic Organisms**, v. 2, p. 39-47, 1986.

- PAQUET, F.; GERMAIN, P.; FRITSCH, P. Étude ultrastructurale de la glande digestive du homard *Homarus gammarus*. Rôle des divers types cellulaires dans les processus digestifs. **Cahiers de Biologie Marine**, v. 35, p. 15-37, 1993.
- PATIL, H.S.; KALIWAL, M. B. Histopathological effects of zinc on the gills of prawn *Macrobrachium hendersodyanum*. **Zeitschrift fuer Angewandte Zoologia**, v.76, p. 505–510, 1989.
- PEDERSEN, T. V.; BJERREGAARD, P. Cadmium influx and efflux across perfused gills of the shore crab *Carcinus maenas*. **Aquatic Toxicology**, v. 48 p. 223-231, 2000.
- PEIXOTO, S. R. M.; CAVALLI, R. O.; D'INCAO, F.; WASIELESKY, W.; AGUADO, N. Description of reproductive performance and ovarian histology of wild *Farfantepenaeus paulensis* from shallow waters in southern Brazil. **Nauplius**, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 149-153, 2002.
- PÉREZ-FARFANTE, I. **Illustrated key to Penaeoid shrimps of commerce in the Americas**. NOAA Tech. Rep. NMFS, 1988, v. 64, p. 1-32.
- PÉREZ-FARFANTE, I.; KENSLEY, B. F. Penaeoid and Sergestoid Shrimps and Prawns of the World. Keys and Diagnoses for the Families and Genera. **Memoires du Museum National d'Histoire Naturelle**, v. 175, p.1-233, 1997.
- PETERLE, G. T. **Aspectos morfológicos e funcionais do hepatopâncreas de camarão sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* (HELLER, 1862) (Crustacea: Penaeoidea) do litoral sul do Espírito Santo**. 2011. 51p. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas)- Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo, Brasil, 2011.
- PHILLIPS, D. J. H.; RAINBOW, P.S. **Biomonitoring of Trace Aquatic Contaminants**. London: Chapman and Hall, 2<sup>nd</sup> edition, 1994.
- PILLAI, R. S. Studies on the shrimp *Caridina laevis* (Heller). 1. The digestive system. 1960. In: HARRISON, F. W.; HUMES, A. G. (Eds.), **Microscopic Anatomy of Invertebrates**, v.10. Decapoda Crustacea. New York: Wiley-Liss, 1992. p. 147-201.
- PINHEIRO, M. A. A.; HEBLING, N. J. Biologia de *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879). In: VALENTI, W. C. (Ed.) **Carcinicultura de água doce**. IBAMA/FAPESP, Brasília. 1998, p. 21-46.
- PINHO, G. L. L.; MOURA DA ROSA, C.; YUNES, J. S.; LUQUET, C.M.; BIANCHINI, A.; MONSERRAT, J.M. Toxic effects of microcystins in the hepatopancreas of the estuarine crab *Chasmagnathus granulatus*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. C 135, p. 459-468, 2003.
- RAINBOW, P. S. The biology of heavy metals in the sea. **International Journal of Environmental Studies**, v. 25, p.195-211, 1985.
- RAINBOW, P. S. The significance of trace metals concentration in decapods. **Symposia of the Zoological Society of London**, v. 19, p. 291-313, 1988.

- RAINBOW, P. S. Heavy metals in marine invertebrates. In: FURNESS, R. W.; RAINBOW, P.S. (eds). **Heavy metals in Marine Environment**. Florida: CRC Press, 1990, p. 67-79.
- RAINBOW, P. S. The significance of trace metal concentration in marine invertebrates. In: DALLINGER, R.; RAINBOW, P. S.; (Eds), **Ecotoxicology of metals in Invertebrates**. Chelsea, USA: Lewis Publishers, p. 3-2, 1993.
- RAINBOW, P. S. Heavy metals in aquatic invertebrates. In: BEYER, W. N.; HEINZ, G. A.; REDMON-NORDWOOD, A. W. (Eds), **Environmental Contaminants in Wildlife: Interpreting Tissue Concentrations**. Boca Raton: Lewis Publishers, p. 405-425, 1996.
- RAINBOW, P. S. Ecophysiology of trace metal uptake in crustaceans. **Estuarine Coastal and Shelf Science**, v. 44, p. 169– 175, 1997.
- RAINBOW, P. S. Phylogeny of trace metal accumulation in crustaceans. In: LANGSTON, W. J.; BEBIANNO, M. (Eds.), **Metal Metabolism in Aquatic Environments**. London: Chapman and Hall, 1998, p. 285–319.
- RAINBOW, P. S. Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what? **Environmental Pollution**, v. 120, p. 497-507, 2002.
- RAMADEVI, K. R. L. S.; SHYAMASUNDARI, K.; HANUMANTHA RAO, K. Observation on the hepatopancreas of *Ocypoda platytarsis* (Milne-Edwards) (Crustacea, Brachyura). **Bulletin of Zoology**, v. 57, p. 261-265, 1990.
- RAMOS A. P. S.; TREMACOLDI, A. C. Z. **Análise histoquímica do hepatopâncreas do camarão de água doce *Macrobrachium acanthurus* do Rio Cachoeira, sul da Bahia**. In: Anais do XII Seminário de Iniciação Científica da UESC, Santa Cruz, 2006.
- REDDY, A. R. The cytology of digestion and absorption in the crab *Paratelphusa (Oziotelphusa) hydrodromus* (Herbst). **Proceedings - Indian Academy of Sciences**, v. 8B, p. 171-181, 1938.
- REDDY, H. R. V.; GANAPATHI, N. M.; ANNAPPASWA-MY, T. S. Evaluation of the dietary essentiality of vitamins for *Penaeus monodon*. **Aquaculture Nutrition**, v.5, p.267– 275, 1999.
- REICHMUTH, J. M.; WEIS, P.; WEIS, J. S. Bioaccumulation and depuration of metals in blue crabs (*Callinectes sapidus* Rathbun) from a contaminated and clean estuary **Environmental Pollution**, v. 158, n.2, p.361-368, 2010.
- RIBEIRO, K. **Aspectos estruturais do hepatopâncreas, desenvolvimento ovocitário e caracterização hormonal de fêmeas de *Macrobrachium amazonicum* durante as fases de maturação gonadal**. 2006. 98f. Tese (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, 2006.

- RINDERHAGEN, M.; RITTERHOFF, J.; ZAUKE, G. P. Crustaceans as bioindicators. Biomonitoring of polluted water – Reviews and Actual Topics. **Environmental Research Forum**, v. 9, p. 1-34, 2000.
- ROBINSON, A. G.; DILLAMAN, R. M. The effects of naphthalene on the ultrastructure of the hepatopancreas of the fiddler crab, *Uca minax*. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 45, p. 311-323, 1985.
- ROSAS, C.; BOLONGARO-CREVENNA, A.; SÁNCHEZ, A.; GAXIOLA, G.; SOTO, L.; ESCOBAR, E. Role of digestive gland in the energetic metabolism of *Penaeus setiferus* **Biological Bulletin**, v.189, p. 168-174, 1995.
- RUELAS-INZUNZA, S. B.; GARCIA-ROSALES, F.; PÁEZ-OSUNA, F. Distribution of mercury in adult penaeid shrimps from Altata-Ensenada del Pabellon lagoon (SE Gulf of California). **Chemosphere**, v. 57, p. 1657–1661, 2004.
- SANTOS, M. H. S.; CUNHA, N. T.; BIANCHINI, A. Effects of cooper and zinc on growth, feeding and oxygen consumption of *Farfantepenaeus paulensis* postlarvae (Decapoda: Penaeidae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v.247, p. 233-242, 2000.
- SCHEMY, R. A. **Aspectos da biologia de *Callinectes danae* (Smith, 1869) da região de Santos, São Paulo**. 1980, 84p. Dissertação (Mestrado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 1980.
- SCOTT-FORDSMAND, J. J.; DEPLEDGE, M. H. Changes in the tissue concentrations and contents of calcium, copper and zinc in the shore crab *Carcinus maenas* (L.) (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle and following copper exposure during ecdysis. **Marine Environmental Research**, v. 44, n. 4, p. 397-414, 1997.
- SEVERO, M. I. G. **Etude de l'impact toxicologique des polluants minéraux (Cu, Cr) engendré par des rejets sur les crustacées de l'état de Bahia - Brésil**. 1999. 151f. These (Doctorat em Sciences) – Université de Reims Champagne – Ardenne. Soutenue le Février, 1999.
- SOARES, R. B.; PEIXOTO, S. R. M.; BEMVENUTI, C. E.; WASIELESKY, W.; D'INCAO, F.; MURCIA, N.; SUITA, S. Composition and abundance of invertebrate benthic fauna in *Farfantepenaeus paulensis* culture pens (Patos lagoon estuary, Southern Brazil). **Aquaculture**, v. 239, p. 199-215, 2004.
- SOARES, R. B.; PEIXOTO, S.; WASIELESKY, W.; D'INCAO, F. Feeding rhythms and diet of *Farfantepenaeus paulensis* under pen culture in Patos Lagoon estuary. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 322, n. 2, p. 167-176, 2005.
- SOEGIANTO, A.; CHARMANTIER-DAURES, M.; TRILLES, J. P.; CHARMANTIER, G. Impact of cadmiun on the structure of gills and epipodites of the shrimp *Penaeus japonicus* (Decapoda). **Aquatic Living Resource**, Elsevier: Paris, v. 12, n. I, p. 57-70, 1999a.

- SOUSA, E. C. P. M. Métodos em ecotoxicologia marinha: aplicações no Brasil. In: **Métodos em ecotoxicologia marinha**. NASCIMENTO, I. A.; SOUSA, E. C. P. M., NIPPER, M. (Eds), São Paulo: Editora Artes Gráficas e Indústria Ltda., 2002.
- SOUSA, L. G.; PETRIELLA, A. M. Histology of the hepatopancreas of the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Caridea). **Biocell**, v. 24, p.189-195, 2000.
- SOUSA, L. G.; PETRIELLA, A. M. Changes in hepatopancreas histology of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Caridea) during moult. **Biocell**, v. 25, p. 275-281, 2001.
- SOUSA, L. G.; PETRIELLA, A. M. Functional morphology of the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea: Decapoda): influence of environmental pollution. **Revista de Biología Tropical**, v. 55, suppl.1, p. 79-86, 2007.
- SOUSA, L. G.; CUARTAS, E. I.; PETRIELLA, A. M. Fine structural analysis of the epithelial cells in the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Decapoda, Caridea) in intermoult. **Biocell**, v. 29, n. 1, p. 25-31, 2005.
- SPINDLER, K. D.; HENNECKE, R.; GELLISSEN, G. Protein production and the moulting cycle in the crayfish *Astacus leptodactylus* (Nordmann, 1842): II. Hemocyanin and protein synthesis in the midgut gland. **General and Comparative Endocrinology**, v. 85, n. 2, p. 248-253, 1992.
- STANIER, J. E.; WOODHOUSE, M. A.; GRIFFIN, R. L. The fine structure of the hepatopancreas of *Carcinus maenas* (L.) (Decapoda, Brachyura). **Crustaceana**, v. 14, p. 56-66, 1968.
- STEVENSON, J. R. Dynamics of the integument. In: **The Biology of Crustacea**, v. 9. New York: Academic Press, 1985.
- STORCH, V.; WELSCH, U. Elektronenmikroskopische und enzymhistochemische Untersuchungen der Mitteldarmdrüse der landlebenden Decapoden *Caenobita rugosus* und *Ocypode ceratophthalma*. **Zoologische Jahrbuecher Abteilung fuer Anatomie und Ontogenie der Tiere**, v. 97, p. 25-39, 1977.
- STORCH, V.; JANSSEN, H. H.; CASES, E. The effects of starvation on the hepatopancreas of the coconut crab *Birgus latro* (Crustacea, Decapoda), **Zoologischer Anzeiger**, v. 208, p. 115-123, 1982.
- SUMIDA, P. Y. G.; PIRES-VANIN, A. M. S. Benthic associations of the shelfbreak and upper slope of Ubatuba-SP, South-eastern Brazil. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 44, p. 779-784, 1997.
- SUNILA, I. Histopathological changes in the mussel *Mytilus edulis* L. at the outlet from a titanium dioxide plant in northern Baltic. **Annals of Zoology Fennici**, v. 23, p. 61-70, 1986.
- SZYFTER, Z. The correlation of moulting and changes occurring in the hepatopancreas of *Porcellio scaber* Latr. (Crustacea, Isopoda). **Bulletin de la Société des amis des sciences et des lettres de Pozna**, v. 7D, p. 95-114, 1966.



- TORREBLANCA, A.; DIAZ-MAYANS, J.; DEL RAMO, J.; NUNEZ, A. Oxygen uptake and gill morphological alterations in *Procambarus clarkii* (Girard) after sublethal exposure to lead. **Comparative Biochemistry and Physiology, Part C** 86, p. 219–224, 1987.
- TORRES, R. F. **Disponibilidade dos metais cobre e chumbo em um canal de maré receptor de efluentes de carcinicultura**. 2009. 134f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Fortaleza, 2009.
- TRAVIS, D. F. The moulting cycle of the spiny lobster, *Panulirus argus* Latreille. II. Pre-ecdysial histological and histochemical changes in the hepatopancreas and integumental tissues. **Biological Bulletin**, v. 108, p. 88-112, 1955.
- TRAVIS, D. F. The moulting cycle of the spiny lobster, *Panulirus argus* Latreille. IV. Post-ecdysial histological and histochemical changes in the hepatopancreas and integumental tissues. **Biological Bulletin**, v. 113, p. 451-479, 1957.
- VALENTIM-NETO, P.A. **Possíveis causas da mortalidade do caranguejo-uçá *Ucides cordatus* (Linnaeus, 1763) no estuário do Rio Jaguaribe- Ceará**. 2004. 75p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2004.
- VALENTINI, H; D'INCAO, F.; RODRIGUES, L. F.; REBELO NETO, J. E.; RAHN, E. Análise da pesca do camarão-rosa (*P. brasiliensis* e *P. paulensis*) nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. **Atlântica**, Rio Grande, v. 13, n. 1, p. 143-157, 1991a.
- VALENTINI, H; D'INCAO, F.; RODRIGUES, L. F.; REBELO NETO, J. E.; DOMIT, L. G. Análise da pesca do camarão-sete-barbas (*Xiphopenaeus kroyeri*) nas regiões Sudeste e Sul do Brasil. **Atlântica**, Rio Grande, v.13, n 1, p. 143-157, 1991b.
- Van WEEL, P. B. Hepatopancreas? **Comparative Biochemistry and Physiology part A**, v. 47, p. 1-9, 1974.
- VIARENGO, A. Heavy metals in marine invertebrates: Mechanisms of regulation and toxicity at the cellular level. **CRC Critical Reviews in Aquatic Sciences**, v. 1, p. 295-317, 1989.
- VIJAYAN, K. K.; DIWAN, A. D. Fluctuations in Ca, Mg, and P levels in the hemolymph, muscle, midgut gland and exoskeleton during the moult cycle of the Indian white prawn, *Penaeus indicus* (Decapoda, Penaeidae). **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 114<sup>a</sup>, n. 1, p. 91-97, 1996.
- VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, n. 4, p. 779-785, 2007.
- VOGT, G. Histologie und cytology der mitteldartrüse von *Penaeus monodon* (Decapoda). **Zoologischer Anzeiger**, v. 215, p. 61-80, 1985.



- VOGT, G. Monitoring of environmental pollutants such as pesticides in prawn aquaculture by histological diagnosis. **Aquaculture**, v. 67, p. 157-164, 1987.
- VOGT, G. Life-cycle and functional cytology of the hepatopancreatic cells of *Astacus astacus* (Crustacea, Decapoda). **Zoomorphology**, v. 114, p. 83-101, 1994.
- VOGT, G.; STORCH, V.; QUINTIO, E.T.; PASCUAL, F. P. Midgut gland as a monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* (Decapoda). **Aquaculture**, v. 48, p. 1-12, 1985.
- VOGT, G.; STOCKER, W.; ZWILLING, R. Biosynthesis of *Astacus* proteases, a digestive enzyme from crayfish. **Histochemistry**, v. 91, p. 373-381, 1989.
- WHITE, S. L.; RAINBOW, P. S. Regulation and accumulation of cooper, zinc and cadmium by the shrimp *Palaemon elegans*. **Marine Ecology Progress Series**, v. 8, p. 95-101, 1982.
- WHO– World Health Organization. International Programme on Chemical Safety. **Environmental Health Criteria**, 1992.
- WOUTERS, R.; MOLINA, C.; LAVENS, P.; CALDERÓN, J. Lipid composition and vitamin content of wild female *Litopenaeus vannamei* in different stages of sexual maturation. **Aquaculture**, v. 198, p. 307-323, 2001.
- WU, J.; CHEN, H.; HUANG, D. Histopathological and biochemical evidence of hepatopancreatic toxicity caused by cadmium and zinc in the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Chemosphere**, v. 73, p. 1019-1026, 2008.
- YANG, Z. B.; ZHAO, Y. L.; LI, N.; YANG, J.; HUA, X. G. Effect of waterborne copper on the Y-organ and contet of 20-hydroxyecdysone in *Eriocheir sinensis*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 54, p. 69-74, 2008.
- ZAGATTO, P.A., BERTORETTI, E. **Ecotoxicologia Aquática: Princípios e Aplicações**. São Carlos: Editora RIMA, 2006. 464p.
- ZILLI, L.; SCHIAVONE, R.; SCORDELLA, G.; ZONNO, V.; VERRI, T.; STORELLI, C.; VILELLA, S. Changes in cell type composition and enzymatic activities in the hepatopancreas of *Marsupenaeus japonicus* during the moulting cycle. **Journal of Comparative Physiology**, v. B 173, p. 355-363, 2003.
- ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1996. 662p.

## *Apêndices*

---

**Apêndice A.** Concentração de metais pesados encontradas em cada subamostra de camarões-rosa *Farfantepenaeus brasiliensis* coletados em Guarapari, Espírito Santo, Brasil.

<b>Subamostra</b>	<b>Cr</b> (mg/Kg)	<b>Cd</b> (mg/Kg)	<b>Cu</b> (mg/Kg)	<b>Mn</b> (mg/Kg)	<b>Zn</b> (mg/Kg)	<b>Pb</b> (mg/Kg)
<b>1</b>	0,00	0,00	60,95	0,00	41,85	9,50
<b>2</b>	0,00	0,00	19,19	0,00	31,40	10,68
<b>3</b>	0,00	0,00	27,55	0,00	30,95	2,54
<b>4</b>	0,00	0,00	42,35	0,00	39,55	1,28
<b>5</b>	0,00	0,00	33,40	0,00	36,15	0,00
<b>Média</b>						
<b>Desvio-padrão</b>	0,00±0,00	0,00±0,00	36,69 ± 15,98	0,00±0,00	35,98±4,83	4,8±4,93

**Apêndice B.** Concentração de metais pesados encontradas em cada subamostra de camarões-sete-barbas *Xiphopenaeus kroyeri* coletados em Marataízes, Espírito Santo, Brasil.

<b>Subamostra</b>	<b>Cr</b> (mg/Kg)	<b>Cd</b> (mg/Kg)	<b>Cu</b> (mg/Kg)	<b>Mn</b> (mg/Kg)	<b>Zn</b> (mg/Kg)	<b>Pb</b> (mg/Kg)
<b>1</b>	0,00	0,00	23,20	9,25	41,25	1,75
<b>2</b>	0,00	0,00	24,65	4,60	43,50	2,51
<b>3</b>	0,00	0,00	20,15	9,15	38,00	7,16
<b>4</b>	0,00	0,00	23,50	6,50	42,25	11,44
<b>5</b>	0,00	0,00	22,65	4,85	38,25	4,68
<b>Média</b>						
<b>Desvio-padrão</b>	0,00±0,00	0,00±0,00	22,83± 1,67	6,87±2,25	40,65±2,44	5,51±3,93

*Anexos*

---

**ANEXO A****Portaria n º 685, de 27 de agosto de 1998**  
(Republicada no DOU. DE 24/09/98)**ANEXO: LIMITES MÁXIMOS DE TOLERÂNCIA PARA CONTAMINANTES INORGÂNICOS EM ALIMENTOS****ARSÊNIO**

Gorduras vegetais	0,1 mg/kg
Gorduras e emulsões refinadas	0,1 mg/kg
Gorduras hidrogenadas	0,1 mg/kg
Açúcares	1,0 mg/kg
Caramelos e balas	1,0 mg/kg
Bebidas alcoólicas fermentadas	0,1 mg/kg
Bebidas alcoólicas fermento-destiladas	0,1 mg/kg
Cereais e produtos a base de cereais	1,0 mg/kg
Gelados comestíveis	1,0 mg/kg
Ovos e produtos de ovos	1,0 mg/kg
Leite fluído, pronto para o consumo	0,1 mg/kg
Mel	1,0 mg/kg
Peixe e produtos de peixe	1,0 mg/kg
Produtos de cacau e derivados	1,0 mg/kg
Chá, mate, café e derivados	1,0 mg/kg

**COBRE**

Óleos e gorduras virgens	0,4 mg/kg
Óleos, gorduras e emulsões refinadas	0,1 mg/kg
Caramelos e balas	10 mg/kg
Bebidas alcoólicas fermentadas	10 mg/kg
Frutas, hortaliças e sementes oleaginosas in natura e industrializadas	10 mg/kg
Gelados comestíveis	10 mg/kg
Lactose	2,0 mg/kg
Mel	10 mg/kg

**ESTANHO**

Sucos de frutas cítricas (enlatados)	150 mg/kg
--------------------------------------	-----------



## CHUMBO

Óleos, gorduras e emulsões refinadas	0,1 mg/kg
Caramelos e balas	2,0 mg/kg
Cacau (exceto manteiga de cacau e chocolate adoçado)	2,0 mg/kg
Chocolate adoçado	1,0 mg/kg
Dextrose (glucose)	2,0 mg/kg
Sucos de frutas cítricas	0,3 mg/kg
Leite fluído, pronto para consumo	0,05 mg/kg
Peixes e produtos de pesca	2,0 mg/kg
Alimentos para fins especiais, preparados especialmente para lactentes e crianças até três	0,2 mg/kg
Partes comestíveis cefalópodes	2,0 mg/kg

## CÁDMIO

Peixes e produtos da pesca	1,0 mg/kg
----------------------------	-----------

## MERCÚRIO

Peixes e produtos da pesca (exceto predadores)	0,5 mg/kg
Peixes predadores	1,0 mg/kg

(\*) Retificada por ter saído com incorreções do original no D.O. nº 165-E, de 28/08/98, Secção I, págs. 28 e 29.

**FONTE:** BRASIL. Portaria nº 685/98. Aprova o Regulamento Técnico: “Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos” e seu Anexo: “Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos”, complementa e faz algumas modificações no Decreto Lei nº. 55.871, de 26 de março de 1965. Disponível em <[http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685\\_98.htm#](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/685_98.htm#)>. Acesso em: 22 de junho de 2011.

**Valores médios (em ppm de peso úmido) obtidos no trabalho de Virga et al. (2007), comparados com os limites máximos recomendados pelas principais organizações de saúde.**

Metal	FAO/WHO <sup>11,13</sup>	BRASIL <sup>2</sup>	EPA <sup>8,9</sup>	VIRGA et al.(2007)
Cádmio	1,0	1,0	> 2,0	0,16 ± 0,13
Cromo total	12	0,1	0,1 – 0,9	0,68 ± 0,43
Chumbo	2,0	2,0	0,1 – 0,8	*1,17 ± 0,13
Cobre	30,0	30,0	1,0 – 20,0	15 ± 12
Zinco	50,0	50,0	10,0 – 30,0	15 ± 11

\*mediana dos resultados

**FONTE:** VIRGA, R. H. P.; GERALDO, L. P.; SANTOS, F. H. Avaliação de contaminação por metais pesados em amostras de siris azuis. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 27, n. 4, p. 779-785, 2007.

## ANEXO B

Padrões de Qualidade de Água salina, segundo Resolução CONAMA nº 357 de 2005.  
(Publicada no DOU nº 53, de 18 de março de 2005, seção 1, páginas 58-63).

TABELA IV - CLASSE 1 - ÁGUAS SALINAS	
PADRÕES	
Parâmetros inorgânicos	Valor máximo
Alumínio dissolvido	1,5 mg/L Al
Arsênio total	0,01 mg/L As
Bário total	1,0 mg/L Ba
Berílio total	5,3 µg/L Be
Boro total	5,0 mg/L B
Cádmio total	0,005 mg/L Cd
Chumbo total	0,01 mg/L Pb
Cianeto livre	0,001 mg/L CN
Cloro residual total (combinado + livre)	0,01 mg/L Cl
Cobre dissolvido	0,005 mg/L Cu
Cromo total	0,05 mg/L Cr
Ferro dissolvido	0,3 mg/L Fe
Fluoreto total	1,4 mg/L F
Fósforo Total	0,062 mg/L P
Manganês total	0,1 mg/L Mn
Mercúrio total	0,0002 mg/L Hg
Níquel total	0,025 mg/L Ni
Nitrato	0,40 mg/L N
Nitrito	0,07 mg/L N
Nitrogênio amoniacal total	0,40 mg/L N
Polifosfatos (determinado pela diferença entre fósforo ácido hidrolisável total e fósforo reativo total)	0,031 mg/L P
Prata total	0,005 mg/L Ag
Selênio total	0,01 mg/L Se
Sulfetos (H <sub>2</sub> S não dissociado)	0,002 mg/L S
Tálio total	0,1 mg/L Tl
Urânio Total	0,5 mg/L U
Zinco total	0,09 mg/L Zn
Parâmetros orgânicos	Valor máximo
Aldrin + Dieldrin	0,0019 µg/L
Benzeno	700 µg/L
Carbaril	0,32 µg/L
Clordano (cis + trans)	0,004 µg/L
2,4-D	30,0 µg/L
DDT (p,p'-DDT+ p,p'-DDE + p,p'-DDD)	0,001 µg/L
Demeton (Demeton-O + Demeton-S)	0,1 µg/L
Dodecacloro pentaciclododecano	0,001 µg/L
Endossulfan (α + β + sulfato) <sup>72</sup>	0,01 µg/L
Endrin	0,004 µg/L
Etilbenzeno	25 µg/L
Fenóis totais (substâncias que reagem com 4-aminoantipirina)	60 µg/L C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> OH
Gution	0,01 µg/L
Heptacloro epóxido + Heptacloro	0,001 µg/L

72 Retificado no DOU nº 87, de 9 de maio de 2005, pág. 44.

Lindano ( $\gamma$ -HCH) <sup>73</sup>	0,004 $\mu\text{g/L}$
Malation	0,1 $\mu\text{g/L}$
Metoxicloro	0,03 $\mu\text{g/L}$
Monoclorobenzeno	25 $\mu\text{g/L}$
Pentaclorofenol	7,9 $\mu\text{g/L}$
PCBs - Bifenilas Policloradas	0,03 $\mu\text{g/L}$
Substâncias tensoativas que reagem com o azul de metileno	0,2 mg/L LAS
2,4,5-T	10,0 $\mu\text{g/L}$
Tolueno	215 $\mu\text{g/L}$
Toxafeno	0,0002 $\mu\text{g/L}$
2,4,5-TP	10,0 $\mu\text{g/L}$
Tributilestanho	0,01 $\mu\text{g/L}$ TBT
Triclorobenzeno (1,2,3-TCB + 1,2,4-TCB)	80 $\mu\text{g/L}$
Tricloroeteno	30,0 $\mu\text{g/L}$

**FONTE:** CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução CONAMA N° 357/17 de março de 2005. Disponível em <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: agosto, 2011.

Rio Claro, 14 de Dezembro de 2011.

Orientada:

\_\_\_\_\_

Erika Takagi Nunes

Orientadora:

\_\_\_\_\_

Profa. Dra. Maria Izabel Souza Camargo

Co-orientadora:

\_\_\_\_\_

Profa. Dra. Adriane C. Araújo Braga